



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO DE PARASITAS GASTROINTESTINAIS E SEU IMPACTO ZOONÓTICO EM
CÃES DE CANIL DA CIDADE DE LISBOA

Fernando Lopo de Melo e Castro Ribeiro Lebre

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da Fonseca
de Sampaio

ORIENTADORA

Dra. Maria João Nobre de Matos
Pereira Vieira

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

CO-ORIENTADOR

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

Dra. Maria João Nobre de Matos Pereira Vieira

2011

LISBOA



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

RASTREIO DE PARASITAS GASTRINTESTINAIS E SEU IMPACTO ZONÓTICO EM
CÃES DE CANIL DA CIDADE DE LISBOA

Fernando Lopo de Melo e Castro Ribeiro Lebre

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da Fonseca
de Sampaio

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Dra. Maria João Nobre de Matos Pereira Vieira

ORIENTADORA

Dra. Maria João Nobre de Matos
Pereira Vieira

CO-ORIENTADOR

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

2011

LISBOA

AGRADECIMENTOS

A realização do meu estágio curricular e a elaboração da dissertação, assim como todo este longo curso que está prestes a terminar, não seria possível sem a ajuda, apoio e contribuição de várias pessoas.

Ao Hospital Veterinário da Figueira da Foz – Clínica, nomeadamente à minha orientadora Dr.^a Maria João, ao Dr. João, à Dr.^a. Ana Luísa, à Dr.^a. Rita, à Ana, ao David e à Helena por tudo o que me ensinaram e transmitiram, pela paciência e pela ajuda, pelo bom ambiente e pela boa-disposição mas sobretudo pela amizade de todos.

Ao Professor José Meireles, meu co-orientador, pela ajuda, apoio, esclarecimentos e amizade transmitida durante a escrita desta dissertação. À Professora Isabel Fonseca e ao Professor Luís Carvalho, que estiveram sempre disponíveis para as minhas dúvidas e que muito me ajudaram.

À Lídia, sem dúvida a melhor técnica do mundo, que aturou as minhas desarrumações e barafundas no laboratório e que me ensinou e explicou praticamente tudo o que hoje sei relacionado com os métodos e técnicas laboratoriais.

À Professora Isabel Neto pela preciosa e fundamental ajuda na parte da análise e revisão estatística dos meus dados, estando sempre disponível para me acudir, corrigir e esclarecer. À Carina Quaresma pela ajuda, disponibilidade e esclarecimentos prestados sobre o SPSS.

À Dr.^a. Rebecca Traub, pela amabilidade que teve em me enviar o seu artigo.

À grupeta dos Açores, que foi formada no primeiro ano deste curso e que ainda hoje se mantém unida, nomeadamente a Ana Mota, a Carla Almeida, a Diana Ferreira, a Diana Nóbrega, a Joana Leite, a Joana Ramos, o Rui Vidal, a Sandra Subtil e a Tânia Horta. Fazer este curso sem vocês não seria definitivamente a mesma coisa. Não me posso esquecer do Professor João Barcelos que tanto nos ajudou e se preocupou connosco nos dois primeiros anos desta licenciatura.

Um agradecimento muito especial à Ana Mota e à Joana Ramos, por tudo o que fizeram para me ajudar na conclusão desta tese. Sem a vossa ajuda esta dissertação com certeza demoraria ainda mais algum tempo a ir para o papel.

A todas as pessoas com as quais travei conhecimento nas minhas deslocações aos canis, que muito me ajudaram e que me deixaram impressionado e surpreendido com a dedicação e a compaixão diária prestada aos cães que têm ao seu cuidado. Na UZ gostaria de destacar a Margarida e a Médica Veterinária mas principalmente a João e a Teresa que foram incansáveis no auxílio que sempre me prestaram. Na associação F&B sem dúvida gostaria de destacar a ajuda dada pela Ana Francisco e pela Sabrina, que tudo fizeram para que nada me faltasse. No CML agradeço a ajuda prestada pelos Médicos Veterinários e pelos funcionários.

Por fim, mas com uma grande importância para mim, um obrigado especial para os meus queridos pais, os meus irmãos (Rosarinho, Rita, Fred), as minhas sobrinhas (Carmo, Rosarinho e Luís), os meus avós, os meus primos (todos mas em especial a Matildinha, Duarte, Lopo, Lourenço e Miguel), os meus amigos de sempre (todos mas em especial a Ana, o António, o João Francisco, o Nuno e o Sidónio) e à minha cadela (Safari és a maior!).

RESUMO

Título: Rastreio de Parasitas Gastrintestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa.

Resumo: Os parasitas gastrintestinais (GI) (nemátodos, céstodos e protozoários) são um dos principais motivos de preocupação em cães abrigados em canis. Este ambiente apresenta as características ideais para a infecção dos cães por parasitas com ciclo de vida directo.

Nesse sentido, procedeu-se à recolha e análise de 179 amostras de fezes provenientes de 3 canis de Lisboa. Deste total de amostras, 124 foram colhidas individualmente e 55 foram recolhidas do interior de boxes com mais que 1 cão e por conseguinte, a colheita foi efectuada por amostragem.

As amostras foram todas (n=179) analisadas através do método de flutuação passiva com sulfato de zinco. Adicionalmente foram seleccionadas aleatoriamente 54 amostras para a pesquisa de *Giardia* e *Cryptosporidium* através de um teste comercial de imunofluorescência directa (IFD). As prevalências totais globais de parasitas obtidas pelos métodos de flutuação e IFD foram 24,6% (44/179) e 64,8% (35/54), respectivamente. Em relação às prevalências específicas por parasita, os resultados obtidos foram os seguintes: *Cystoisospora* 10,1% (18/179), Ancylostomatidae 9,5% (17/179), *Toxascaris leonina* 4,5% (8/179), *Toxocara canis* 2,8% (5/179), *Dipylidium caninum* e *Trichuris vulpis* com 1,1% (2/179), Taeniidae 0,6% (1/179), *Giardia* 61,1% (33/54) e *Cryptosporidium* 14,8% (8/54).

Quando analisados os resultados apenas das amostras individuais, as prevalências totais globais obtidas pelo método de flutuação (n=124) e IFD (n=34) foram de 23,4% (29/124) e 61,8% (21/34), respectivamente. Em relação às prevalências específicas por parasita, os resultados obtidos foram os seguintes: *Cystoisospora* 12,1% (15/124), Ancylostomatidae 9,7% (12/124), *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis*, todos com 1,6% (2/124), *Dipylidium caninum* 0,8% (1/124), *Giardia* 55,9% (19/34) e *Cryptosporidium* 17,6% (6/34).

Não foram detectadas associações significativas entre a presença de parasitas e o sexo, idade e raça dos cães, nem entre as diferenças de prevalências entre canis.

Este trabalho demonstrou que os protozoários GI (*Cystoisospora*, *Giardia* e *Cryptosporidium*) constituem o grupo de parasitas mais prevalente nos canis envolvidos neste estudo. Foi demonstrado igualmente a existência de parasitas de potencial zoonótico comprovado em circulação nos canis, tais como, parasitas da família Ancylostomatidae, *T. canis* e *Dipylidium caninum*, devendo ser tomadas medidas para evitar a transmissão destes às pessoas que contactam regularmente com cães presentes neste tipo de ambiente, nomeadamente, os funcionários, veterinários, voluntários e visitantes.

Palavras-chave: Parasitas Gastrintestinais, Cães, Canil, *Giardia*, *Cryptosporidium*.

ABSTRACT

Title: Survey of Gastrointestinal Parasites and their Zoonotic Impact in Shelter Dogs from Lisbon.

Abstract: The gastrointestinal (GI) parasites (nematodes, cestodes and protozoans) are one of the main concerns in dogs held in shelters. These environments provide the ideal conditions for the infection of dogs by parasites with a direct life cycle.

In this context, 179 fecal samples were collected from 3 different shelters of Lisbon. From this total of samples, 124 were collected individually and 55 were collected from the floor of boxes with more than one dog.

All the samples (n=179) were analyzed by passive flotation with zinc sulfate. Additionally, 54 samples were randomly selected to be analyzed for the presence of *Giardia* and *Cryptosporidium* by direct immunofluorescence (IFD). The overall prevalence obtained by flotation and IFD were, respectively, 24,6% (44/179) and 64,8% (35/54). The specific prevalence by parasite were *Cystoisospora* 10,1% (18/179), Ancylostomatidae 9,5% (17/179), *Toxascaris leonina* 4,5% (8/179), *Toxocara canis* 2,8% (5/179), *Dipylidium caninum* e *Trichuris vulpis* with 1,1% (2/179), Taeniidae 0,6% (1/179), *Giardia* 61,1% (33/54) and *Cryptosporidium* 14,8% (8/54).

The analyzed samples collected individually (n=124) showed a overall prevalence of 23,4% (29/124) obtained by flotation (n=124) and 61,8% (21/34) obtained by IFD (n=34). The specific prevalences by parasite were *Cystoisospora* 12,1% (15/124), Ancylostomatidae 9,7% (12/124), *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* and *Trichuris vulpis*, all with 1,6% (2/124), *Dipylidium caninum* 0,8% (1/124), *Giardia* 55,9% (19/34) and *Cryptosporidium* 17,6% (6/34).

There were no statistical significant associations between the presence of parasites and sex, age and breed of the dogs or between the prevalences among shelters.

This work demonstrated that the GI protozoans (*Cystoisospora*, *Giardia* e *Cryptosporidium*) are the most prevalent group of parasites among the shelters that participated in the study. It was also demonstrated that parasites with zoonotic potential are present in shelters, such as Ancylostomatidae, *Toxocara canis* and *Dipylidium caninum* and so appropriate precautions should be taken to minimize the risk of transmission to staff, veterinaries, volunteers and visitors.

Key-Words: Gastrointestinal Parasites, Dogs, Shelter, *Giardia*, *Cryptosporidium*

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS.....	i
RESUMO	iii
ABSTRACT.....	iv
ÍNDICE GERAL	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABELAS	xi
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
LISTA DE ABREVIATURAS	xiii
I. DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES CURRICULARES.....	1
1. Actividades desenvolvidas durante o estágio.....	1
1.1 Hospital Veterinário da Figueira da Foz – Clínica.....	1
1.2 Laboratório de Parasitárias da FMV - UTL	3
1.3 Rastreio de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa – Introdução	5
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	9
1. Nemátodos	9
1.1 Ancilostomose.....	9
1.1.1 Distribuição.....	9
1.1.2 Etiologia.....	9
1.1.3 Ciclo Biológico e Epidemiologia	11
1.1.4 Patogenia	13
1.1.5 Sinais Clínicos	15
1.1.6 Lesões	16
1.1.7 Diagnóstico.....	16
1.1.8 Tratamento	18
1.1.9 Controlo e Profilaxia Imunitária	19
1.1.10 Natureza zoonótica dos ancilostomas.....	19
1.2 Ascaridoses.....	21
1.2.1 Toxocarose canina	22

1.2.1.1 Ciclo biológico.....	22
1.2.1.2 Epidemiologia	25
1.2.1.3 Patogenia.....	27
1.2.1.4 Sinais Clínicos	27
1.2.1.5 Lesões	28
1.2.1.6 Diagnóstico	29
1.2.1.7 Tratamento.....	30
1.2.1.8 Controlo	31
1.2.1.9 Aspectos zoonóticos	33
1.2.2 Toxascariose canina.....	35
1.2.3 Baliscariose canina.....	36
1.3 Tricuriose	37
1.3.1 Etiologia.....	37
1.3.2 Ciclo Biológico e Epidemiologia	38
1.3.3 Patogenia e Sintomatologia.....	39
1.3.4 Lesões	40
1.3.5 Diagnóstico.....	40
1.3.6 Tratamento	41
1.3.7 Controlo e Profilaxia	41
1.3.8 Aspectos zoonóticos.....	42
2. Céstodos.....	42
2.1 Ordem Cyclophyllidea	43
2.1.1 Família Taeniidae	43
2.1.1.1 <i>Taenia</i> spp	43
2.1.1.2 <i>Echinococcus</i> spp	44
2.1.2 Família Dipylidiidae.....	46
2.1.2.1 <i>Dipylidium caninum</i>	46
3. Protozoários.....	48
3.1 Coccídias	48
3.1.1 <i>Cystoisospora</i> spp	48

3.1.1.1 Ciclo Biológico	48
3.1.1.2 Epidemiologia	49
3.1.1.3 Quadro Clínico	50
2.1.1.4 Diagnóstico	50
3.1.1.5 Tratamento.....	51
3.1.1.6 Profilaxia	52
3.1.2 <i>Cryptosporidium</i> spp.....	52
3.1.2.1 Ciclo Biológico	54
3.1.2.2 Epidemiologia	55
3.1.2.3 Sinais Clínicos e Patogenia	55
3.1.2.4 Diagnóstico	55
3.1.2.5 Tratamento e Prevenção	57
2.1.2.6 Impacto Zoonótico	58
3.2 Flagelados.....	59
3.2.1 <i>Giardia</i> spp	59
3.2.1.1 Taxas de Prevalência	61
3.2.1.2 Ciclo Biológico	61
3.2.1.3 Epidemiologia	62
3.2.1.4 Patogenia.....	63
3.2.1.5 Sinais Clínicos	64
3.2.1.6 Diagnóstico	65
3.2.1.7 Tratamento e profilaxia	67
3.2.1.8 Impacto Zoonótico	69
III. ESTUDO - Rastreio de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa.....	71
1. Objectivos.....	71
2. Materiais e Métodos	71
2.1 Canis.....	71
2.2 Amostras	74
2.3 Exames parasitológicos	75

2.4 Análise de dados.....	76
3. Resultados.....	76
3.1 Amostras individuais e colectivas	76
3.1.1 Valores de prevalências determinados pelo método de flutuação	76
3.1.2 Valores de prevalências determinados pela técnica de IFD	77
3.1.3 Risco de infecção por canil.....	78
3.2 Amostras individuais	78
3.2.1 Valores de prevalências determinados pelo método de flutuação e pela técnica de IFD.....	78
3.2.2 Prevalências por sexo dos cães	80
3.2.3 Prevalências por idade dos cães.....	82
3.2.4 Prevalências por raça dos cães	83
3.2.5 Número de diferentes géneros de parasitas por cão	84
4. Discussão	85
4.1 Amostras individuais e colectivas	85
4.1.1 Prevalências por flutuação	85
4.1.2 Prevalências por IFD	88
4.2 Amostras individuais	91
4.2.1 Prevalências por flutuação	91
4.2.2 Prevalências por IFD	92
4.2.3 Prevalências por sexo, idade e raça	93
4.2.4 Número de diferentes géneros de parasitas por cão	95
5. Conclusão.....	96
BIBLIOGRAFIA.....	97
ANEXOS.....	104

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Pododermatite inflamatória plasmocítica. Fonte: Foto gentilmente cedida pelo HVFF – Clínica.....	2
Figura 2: Prolapso da glândula de Hardner, com posterior correcção cirúrgica. Fonte: Foto gentilmente cedida pelo HVFF – Clínica.....	2
Figura 3: <i>Imagem esquerda</i> – Copos contendo solução de sulfato de zinco para homogeneização das fezes. <i>Imagem direita</i> – Lamelas no topo dos tubos de ensaio, antes de serem transferidas para lâminas para observação ao microscópio óptico.....	4
Figura 4: <i>Imagem esquerda</i> - Técnica de <i>Baerman</i> . O sedimento é observado ao microscópio óptico 24 horas depois, para pesquisa de larvas de metastrongilídeos. <i>Imagem direita</i> – Lâminas de imunofluorescência com amostra nos poços número 3, antes de serem colocadas na estufa.....	4
Figura 5: <i>Imagem superior</i> – Método de <i>Haradi – Mori</i> . As fezes presentes no interior dos tubos são positivas para Ancylostomatidae. Após cultura em estufa a 26° C durante 7-10 dias, pipetou-se o sedimento acumulado em água destilada no fundo do tubo para uma lâmina para posterior observação microscópica. <i>Imagem inferior</i> – Observação ao microscópico óptico de larva de Ancylostomatidae. Ampliação: 300x.	5
Figura 6: Cápsula bucal de <i>A. caninum</i> . Fonte: Rochette, 2003.	10
Figura 7: Cápsula bucal de <i>U. stenocephala</i> . Fonte: Rochette, 2003.	11
Figura 8: Ciclo de vida de <i>A. caninum</i> . Fonte: Foreyt, 2001.....	12
Figura 9: Ciclo de vida de <i>U. stenocephala</i> . Fonte: Foreyt, 2001.....	12
Figura 10: Ovo de <i>A.caninum</i> . Ampliação 750x. Adaptado: Thienpont <i>et al.</i> , 1986.	17
Figura 11: Ovo de <i>U. stenocephala</i> . Ampliação 800x. Adaptado: Thienpont <i>et al.</i> , 1986.	18
Figura 12: Larva migrante cutânea. Fonte: Original.	21
Figura 13: Ciclo de vida <i>T. canis</i> . Fonte: Foreyt, 2001.....	23
Figura 14: Aspecto abdominal característico de um cachorro com <i>T. canis</i> . Fonte: Schnieder <i>et al.</i> , 2010.	28
Figura 15: Adultos de <i>T. canis</i> no intestino delgado. Fonte: Overgaauw & van Knapen, 2008.	29
Figura 16: Ovo de <i>T. canis</i> . Ampliação 325x. Fonte: Original.	30
Figura 17: Rato morto por um cão de um dos canis do presente estudo. Fonte: Original. ...	33
Figura 18: Ovos de <i>T. leonina</i> (cima) e de <i>T. canis</i> (baixo). Ampliação: 150x. Fonte: Original.	36
Figura 19: (a) Ovo de <i>T. canis</i> . (b) Ovo de <i>B. procyonis</i> . Ampliação: 300x. Adaptado: Lee <i>et al.</i> , 2010.....	37
Figura 20: Adulto de <i>T. vulpis</i> . Fonte: Rochette, 2003.	38
Figura 21: Ciclo de vida de <i>T. vulpis</i> . Fonte: Foreyt, 2001.....	39

Figura 22: Adultos de <i>T. vulpis</i> no ceco. Fonte: Bowman, 2009.	40
Figura 23: Ovos de <i>T. vulpis</i> . Ampliação: 280x. Fonte: Original.....	41
Figura 24: Ovo de família Taeniidae. Ampliação 570x. Fonte: Foreyt, 2001.....	43
Figura 25: Cápsulas ovíferas presentes em proglote de <i>D. caninum</i> . Ampliação:200x. Fonte: Original.	47
Figura 26: Ciclo de vida do <i>Cystoisospora</i> spp a partir da ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente. Fonte: Foreyt, 2001.....	48
Figura 27: Oocisto de <i>Cystoisospora</i> spp não-esporulado. Ampliação:315x. Fonte: Original.	50
Figura 28 : Oocistos de <i>C. parvum</i> (circulo branco) após flutuação fecal, juntamente com oocistos de <i>Toxoplasma gondii</i> (seta preta). Ampliação: 1200x. Adaptado: Scorza & Tangtrongsup, 2010.....	56
Figura 29: Oocistos de <i>C. parvum</i> visualizados pela coloração de Ziehl-Neelsen. Ampliação: 2400x. Adaptado: Scorza & Tangtrongsup, 2010.....	57
Figura 30: Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> obtido pela técnica de IFD em fezes de cão. Ampliação: 600x. Fonte: Original.....	57
Figura 31: Ciclo de vida de <i>G. duodenalis</i> no cão. Adaptado: Fayret, 2001.	62
Figura 32: Micrografia de fluorescência de um trofozoíto de <i>Giardia</i> corado com anticorpos contra as tubulinas (verde), destacando os seus oito flagelos e com DAPI (azul) para visualizar o ADN nos dois núcleos. Ampliação: 2500x. Adaptado: Logsdon, 2008.....	63
Figura 33: Quistos de <i>Giardia</i> , centrifugação em sulfato de zinco. Ampliação: 580x. Adaptado: Villeneuve, 2009.....	66
Figura 34: Quisto de <i>G. duodenalis</i> , IFD, fezes de cão. Ampliação: 900x. Fonte: Original...	67
Figura 35: Canil da Associação F&B. Fonte: Original.	71
Figura 36: Voluntária da UZ em acções de limpeza. Fonte: Foto gentilmente cedida pela UZ.	73
Figura 37: Voluntária do canil F&B em acções de limpeza. Fonte Original.....	73
Figura 38: <i>Imagem esquerda</i> - Ovo de <i>T. canis</i> . Ampliação:190x. <i>Imagem direita</i> – Ovo <i>T. leonina</i> . Ampliação:160x. Fonte: Original.	111
Figura 39: Ovo de <i>T. vulpis</i> . Ampliação:350x. Fonte: original.	111
Figura 40: Proglote (<i>Imagem superior</i>) e cápsulas ovíferas (<i>Imagem inferior</i>) (Ampliação: 260x) de <i>D. caninum</i> . Fonte: Original.....	112
Figura 41: Oocisto esporulado (inferior) e não-esporulado (superior) de <i>Cystoisospora</i> . Ampliação: 250x. Fonte: Original.....	113
Figura 42: Ovos de Ancylostomatidae. Ampliação: 420x. Fonte: Original.....	113
Figura 43: L1 observada ao microscópio óptico após flutuação fecal. Ampliação:160x. Fonte: Original.	114

Figura 44: L1 observada ao microscópio óptico após flutuação fecal. Ampliação:160x. Fonte: Original.	114
Figura 45: <i>Imagem esquerda</i> - Copos com solução de sulfato de zinco. <i>Imagem direita</i> – Lamelas no topo de tubos de ensaio. <i>Imagem inferior</i> – Lâminas prontas para observação ao microscópio óptico para pesquisa de ovos de parasitas GI. Fonte: Original.....	115
Figura 46: <i>Imagem esquerda</i> : Lâmina de IF com uma amostra por poço. <i>Imagem direita</i> : Amostras após câmara húmida, à saída da estufa.	116

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Principais parasitas gastrintestinais que poderão infectar os cães de canil e seu potencial zoonótico. Adaptado: Robertson & Tompson, 2002; Lappin & Spindel, 2009; Bowman, 2009b.....	7
Tabela 2: Fármacos utilizados no tratamento de infecções por <i>Cystoisospora</i> . Adaptado de Dubey <i>et al.</i> , 2009; Lappin, 2010.....	52
Tabela 3: Espécies de <i>Cryptosporidium</i> e seus hospedeiros. Adaptado: Thompson <i>et al.</i> , 2008; Xiao & Fayer, 2008.	53
Tabela 4: Espécies de <i>Cryptosporidium</i> que infectam humanos e outros hospedeiros. Adaptado: Xiao & Fayer, 2008.....	54
Tabela 5: Protocolos para o tratamento de infecções por <i>Cryptosporidium</i> no cão. Fonte: Scorza & Tangtrongsup, 2010.	58
Tabela 6: Espécies reconhecidas de <i>Giardia</i> . Adaptado: Thompson, 2004; Xiao & Fayer, 2008.....	60
Tabela 7: <i>Assemblages</i> pertencentes à espécie <i>G. duodenalis</i> . Adaptado: Xiao & Fayer, 2008.....	61
Tabela 8: Distribuição por canil do número de amostras recolhidas.	74
Tabela 9: Número de cães por amostra e sua distribuição por canil.....	75
Tabela 10: Prevalência de parasitas no total das amostras (método de flutuação).	77
Tabela 11: Prevalência de parasitas no total das amostras (IFD).	78
Tabela 12: Prevalência de parasitas (método de flutuação).	79
Tabela 13: Prevalência de parasitas (IFD).	80
Tabela 14: Prevalências por sexo (método de flutuação).	81
Tabela 15: Prevalências por sexo (IFD).	81
Tabela 16: Prevalências por idade (método de flutuação).	82

Tabela 17: Prevalências por idade (IFD).	83
Tabela 18: Prevalências por Raça (método de flutuação).	83
Tabela 19: Prevalências por Raça (IFD).	84
Tabela 20: Estudos feitos em canis relativos a prevalências de parasitas gastrintestinais.	105
Tabela 21: Estudos feitos em canis relativos a prevalência de <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i>	106
Tabela 22: Céstodos do cão pertencentes à Ordem Cyclophyllidea e seus hospedeiros intermediários. Adaptado: Acedo et al., 1999.	107
Tabela 23: Distribuição de machos e fêmeas por canil.	108
Tabela 24: Distribuição da idade dos cães por canil.	108
Tabela 25: Distribuição das raças por canil.	108
Tabela 26: Distribuição por canil das amostras seleccionadas para IFD.	109
Tabela 27: Número de cães por amostra (IFD).	109
Tabela 28: Distribuição de machos e fêmeas por canil (IFD).	109
Tabela 29: Distribuição das idades dos cães por canil (IFD).	110
Tabela 30: Distribuição das raças por canil (IFD).	110

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Distribuição das actividades realizadas no HVFF – Clínica.	1
Gráfico 2: Distribuição actividades realizadas no Laboratório de Parasitárias da FMV.	3
Gráfico 3: Número de diferentes géneros de parasitas por cão (Flutuação).	84
Gráfico 4: Número de diferentes géneros de parasitas por cão (IFD).	85

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN** – Ácido Desoxirribonucleico
- BID** – Duas vezes ao dia
- C. *canis*** – *Cystoisospora canis*
- CAPC** – Companion Animal Parasite Council
- CFSPH** – Center for Food Security & Public Health
- CML** – Canil Municipal de Lisboa
- Cr. *canis*** – *Cryptosporidium canis*
- ELISA** – *Enzyme-linked immunosorbent assay*
- ESCCAP** – European Scientific Counsel Companion Animal Parasites
- EUA** – Estados Unidos da América
- F&B** – Canil da Associação Focinhos e Bigodes
- FMV** – Faculdade de Medicina Veterinária
- GI** - Gastrintestinal
- IFD** – Imunofluorescência directa
- L1/L5** – Larvas de 1º/5º estágio
- LMO** – Larva migrante ocular
- LMV** - Larva migrante visceral
- PCR** – *Polymerase chain reaction*
- PO** – Via oral (*Per os*)
- ppp** – Período pré-patente
- PV** – Peso-Vivo
- QQ** – Teste qui-quadrado de Pearson
- SID** – Uma vez ao dia
- SIDA** – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
- SLMC** - Síndrome da larva migrante cutânea
- SNC** – Sistema nervoso central
- TES** – Proteínas de excreção-secreção
- TID** – Três vezes ao dia
- UTL** – Universidade Técnica de Lisboa
- UZ** – União Zoófila

I. DESCRIÇÃO DAS ACTIVIDADES CURRICULARES

1. Actividades desenvolvidas durante o estágio

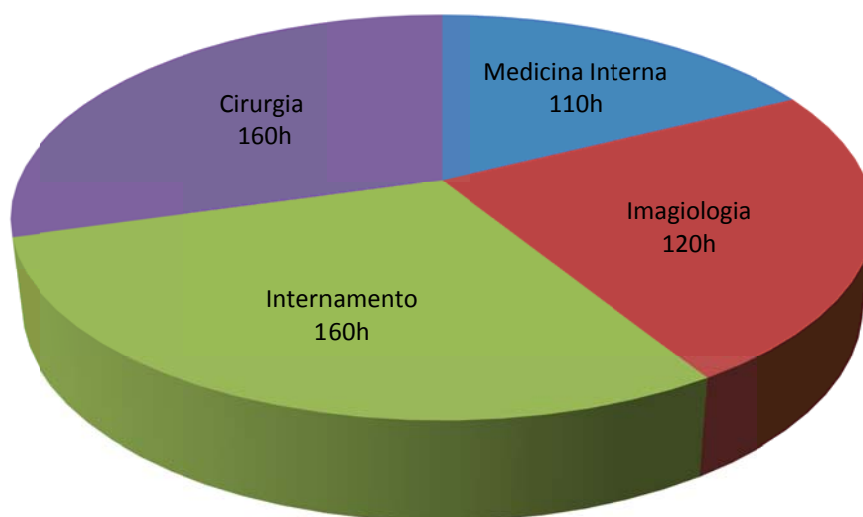
O estágio curricular ocorreu em dois lugares distintos. Numa primeira fase teve lugar no Hospital Veterinário da Figueira da Foz (HVFF) – Clínica, seguindo-se uma passagem pelo Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa (FMV) – Universidade Técnica de Lisboa (UTL), onde tiveram lugar os exames parasitológicos nas fezes colhidas em três cães da região de Lisboa, fornecendo deste modo os dados para a elaboração do documento final com o tema “Rastreio de Parasitas Gastrintestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Zona de Lisboa”.

1.1 Hospital Veterinário da Figueira da Foz – Clínica

O estágio curricular no HVFF – Clínica teve lugar entre os dias 16 de Junho e 16 de Setembro de 2010, com uma duração total de 550 horas.

O estágio englobou a participação nos diversos serviços integrados no hospital, nomeadamente medicina interna (110h), cirurgia (160h), internamento (160h) e imagiologia (120h) (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição das actividades realizadas no HVFF – Clínica.



Na área de medicina interna a actividade clínica desenvolvida consistiu no acompanhamento de consultas, onde se efectuou a anamnese e história clínica, exame físico geral e/ou dirigido, realização de exames de diagnóstico complementares, elaboração de planos de tratamento e/ou de profilaxia e acompanhamento dos casos. As acções de profilaxia médica, tais como primeira consulta, vacinações e desparasitações, tiveram um

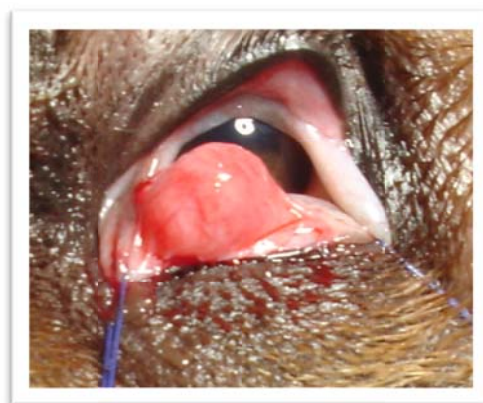
peso grande no total dos casos assistidos. Outras áreas com um peso importante foram sem dúvida, as alterações observadas na pele, tecido subcutâneo e olho (Figura 1), as alterações observadas no aparelho gastrointestinal e glândulas anexas e as alterações do aparelho urogenital.

Figura 1: Pododermatite inflamatória plasmocítica. Fonte: Foto gentilmente cedida pelo HVFF – Clínica.



As cirurgias mais comumente assistidas foram as ovariectomias e orquiectomias. Além destas, outras cirurgias de especial interesse tiveram lugar, como a ablação do conduto auditivo, correção de prolapso da glândula de *Hardner* (Figura 2) e colecistectomia. Durante as cirurgias, as funções do estagiário consistiam na preparação do animal para o procedimento cirúrgico, o auxílio da cirurgia durante a cirurgia e a monitorização pós-cirúrgica do animal.

Figura 2: Prolapso da glândula de Hardner, com posterior correção cirúrgica. Fonte: Foto gentilmente cedida pelo HVFF – Clínica.



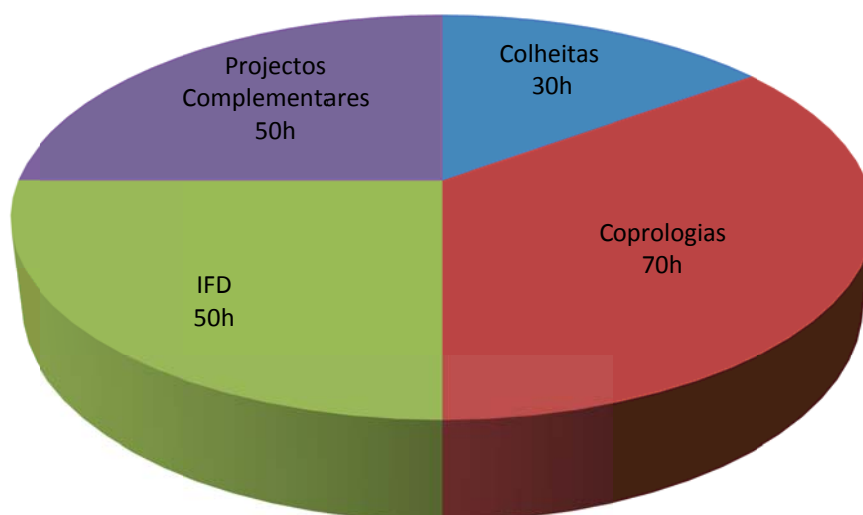
Na área do internamento, as acções realizadas prendiam-se com todo o tipo de cuidados necessários aos animais internados, como preparação da medicação e posterior administração, higienização das jaulas, exercício no exterior, contenção do animal, colheita de sangue, cateterização, etc.

Por fim, na área de imagiologia o estagiário teve a oportunidade de assistir e ajudar na realização de diversas radiografias e ecografias com o veterinário responsável.

1.2 Laboratório de Parasitárias da FMV - UTL

A segunda parte do estágio curricular teve lugar no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV - UTL, entre 20 de Setembro e 1 de Dezembro de 2010. Durou aproximadamente 200 horas, que se dividiram entre colheitas nos canis (30h), coprologias (flutuação) (70h), imunofluorescência directa (IFD) (50h) e projectos complementares (50h) (Gráfico 2).

Gráfico 2: Distribuição actividades realizadas no Laboratório de Parasitárias da FMV.



Aqui, após colheita de fezes nos canis, tiveram lugar os exames de flutuação passiva (Figura 3) (Anexo 7) e imunofluorescência directa (Figura 4 – *Imagem direita*) (Anexo 8), necessários para a obtenção de dados para a realização do estudo propriamente dito. Outros exames tiveram lugar, como o método de *Baerman* para a pesquisa de metastrongilídeos pulmonares (Figura 4 – *Imagem esquerda*) e o método de *Haradi - Mori* (Thienpont, Rochette & Vanparijs, 1986) para a cultura de larvas de ancilostoma (Figuras 5) podendo estes dois métodos ser referidos como projectos complementares.

Figura 3: *Imagem esquerda* – Copos contendo solução de sulfato de zinco para homogeneização das fezes. *Imagem direita* – Lamelas no topo dos tubos de ensaio, antes de serem transferidas para lâminas para observação ao microscópio óptico.



Figura 4: *Imagem esquerda* - Técnica de *Baerman*. O sedimento é observado ao microscópio óptico 24 horas depois, para pesquisa de larvas de metastrongilídeos. *Imagem direita* – Lâminas de imunofluorescência com amostra nos poços número 3, antes de serem colocadas na estufa.

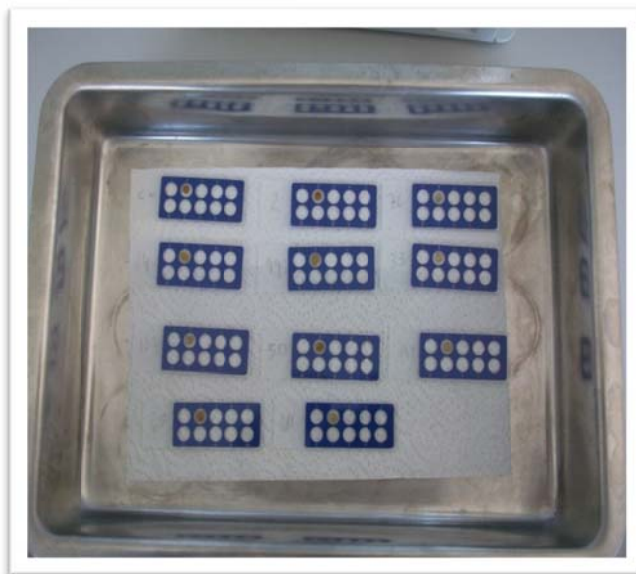
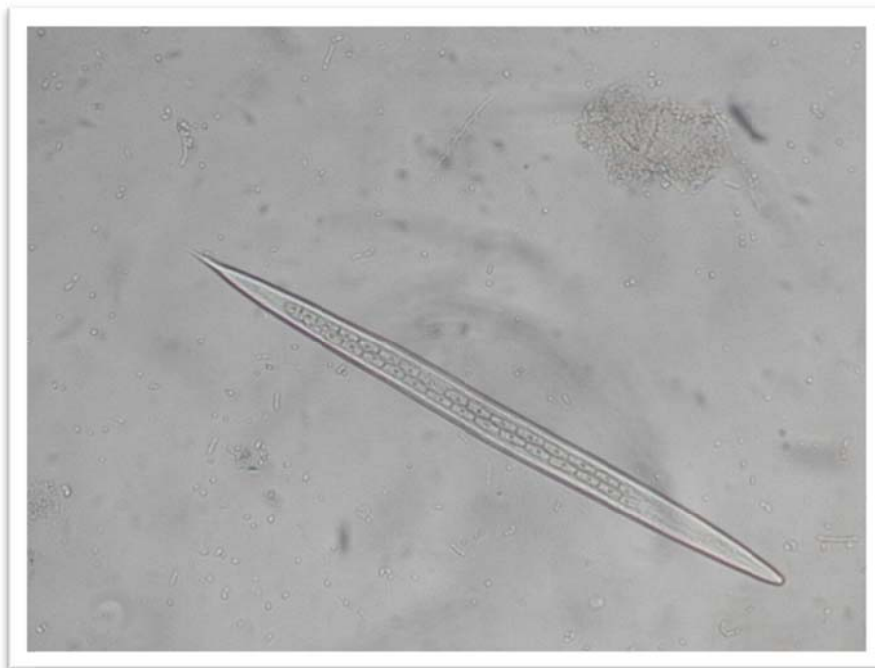


Figura 5: *Imagem superior* – Método de *Haradi – Mori*. As fezes presentes no interior dos tubos são positivas para Ancylostomatidae. Após cultura em estufa a 26° C durante 7-10 dias, pipetou-se o sedimento acumulado em água destilada no fundo do tubo para uma lâmina para posterior observação microscópica. *Imagem inferior* – Observação ao microscópico óptico de larva de Ancylostomatidae. Ampliação: 300x.



1.3 Rastreio de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa – Introdução

Quando os cães dão entrada em canis, é muito provável que nos últimos tempos tenham recebido cuidados veterinários insuficientes ou mesmo nulos. Por conseguinte, existe uma grande possibilidade de serem portadores de uma série de agentes infecciosos, entre eles,

parasitas internos. Estes parasitas que infectam os cães, aquando da entrada num canil podem, segundo Bowman (2009b), ser divididos em dois grupos, nomeadamente:

- A. Parasitas que entram frequentemente e se perpetuam facilmente num canil.
- B. Parasitas que podem entrar nos canis mas não se perpetuam facilmente.

A revisão bibliográfica desta dissertação, cujo estudo foi realizado em 3 canis da região da Grande Lisboa, incidirá sobre os parasitas do grupo A que afectam o sistema gastrointestinal do cão. Nestes incluem-se nemátodos, céstodos e protozoários (Tabela 1).

As preocupações relativas aos parasitas entéricos nos cães não se devem apenas a questões relacionadas com o animal (abordadas mais à frente) mas também devido ao potencial zoonótico que alguns possuem (Tabela 1) (Robertson & Thompson, 2002).

Os principais motivos de preocupação nos canis relativamente à presença de parasitas nos cães são (Bowman, 2009b):

- o Diminuição da probabilidade num cão parasitado de arranjar e manter um dono, devido aos custos imprevistos de tratamento após a adopção.
- o Protecção da saúde individual do animal enquanto previnem a introdução de agentes patogénicos que irão afectar negativamente a saúde geral da população do canil e contaminar o ambiente.
- o Protecção dos funcionários, veterinários, adoptantes e visitantes do canil de agentes potencialmente zoonóticos transportados pelos animais.

Tabela 1: Principais parasitas gastrintestinais que poderão infectar os cães de canil e seu potencial zoonótico. Adaptado: Robertson & Tompson, 2002; Lappin & Spindel, 2009; Bowman, 2009b.

PARASITA	POTENCIAL ZONÓTICO
Nemátodos	
<i>Toxocara canis</i> (<i>T.canis</i>)	Larva Migrante Ocular e Visceral
<i>Toxascaris leonina</i> (<i>T.leonina</i>)	Nenhum
<i>Baylisascaris procyonis</i>	Larva Migrante Visceral Neurológica
<i>Ancylostoma</i> spp	Larva Migrante Cutânea e Enterite Eosinofílica
<i>Uncinaria stenocephala</i> (<i>U. stenocephala</i>)	Larva Migrante Cutânea
<i>Trichuris vulpis</i> (<i>T. vulpis</i>)	Reduzido
<i>Strongyloides stercoralis</i>	Estrongiloidose
Céstodos	
<i>Echinococcus granulosus</i> (<i>E. granulosus</i>)	Hidatidose quística
<i>Echinococcus multilocularis</i> (<i>E. multilocularis</i>)	Hidatidose alveolar
<i>Dipylidium caninum</i> (<i>D. caninum</i>)	Dipilidiose
Protozoários	
<i>Giardia duodenalis</i>	Giardiose
<i>Cystoisospora</i> spp	Nenhum
<i>Cryptosporidium</i> spp	Criptosporidiose

O Conselho Científico Europeu para os Parasitas de Animais de Companhia (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites [ESCCAP], 2010) indica nas suas directrizes a necessidade de uma abordagem e monitorização mais eficaz relativamente aos parasitas GI em cães abrigados em canis, em cães que estejam em contacto com outros animais e em cães com comportamento de predação.

Vários estudos têm sido feitos nos últimos anos referentes à prevalência de parasitas gastrintestinais (GI) em cães de canil (Anexo 1).

Num estudo feito por Bridger e Whitney (2009), relativo à prevalência de parasitas GI na ilha de Saint Pierre (França), foram examinadas amostras fecais provenientes de 57 cães. Destes, 15 animais eram originários de um canil local e apresentaram como parasitas mais prevalentes *T. canis* (20%), Ancylostomatidae (20%) e *Cystoisospora* (6,7%).

Num estudo realizado por Martinez-Moreno *et al.* (2007) na província de Córdoba (Espanha), foram examinados 1800 cães, alojados no Centro de Controlo Animal de Córdoba. Os parasitas mais prevalentes foram *U. stenocephala* com 33%, *Cystoisospora* com 22% e *T. canis* com 18%.

Dubná *et al.* (2007) investigou a prevalência de parasitas GI em cães oriundos de diferentes ambientes (urbano, rural, canil). Nos cães de canil foram analisadas amostras de fezes à

entrada do cão no canil e após a sua permanência. Os parasitas mais prevalentes foram *T. canis*, *Giardia* e *Cystoisospora*. A prevalência de *Giardia* aumentou 11 vezes após a permanência no canil, o mesmo se verificando com *Cryptosporidium* com um aumento de 7 vezes e de *Cystoisospora* com um aumento de 4 vezes.

Num estudo realizado em 1996 nos Estados Unidos da América (EUA) por Blagburn, Lindsay e Vaughan e citado por Little *et al.* (2009), foram colhidas 6000 amostras de cães abrigados em canis. Os resultados demonstraram que 36% dos cães estavam a excretar ovos de pelo menos um parasita. Os parasitas mais prevalentes foram Ancylostomatidae com 20%, os ascarídeos com 15% e *T. vulpis* com 14%.

Palmer, Thompson, Traub, Rees e Robertson (2008) fizeram um estudo a nível nacional na Austrália sobre a prevalência de parasitas GI em 1400 cães. Destes, 590 eram provenientes de canis. O género *Giardia* surgiu como parasita mais prevalente, com 14%, logo seguido por Ancylostomatidae com 10%. Valores mais baixos apresentaram *Cystoisospora* com 5,6% e *T. canis* com 2,4%.

Claerebout *et al.* (2009) realizaram um estudo em diferentes populações de cães na Bélgica (cães alojados em casas e cães provenientes de canis de criação). No total foram recolhidas 357 amostras de 27 canis de criação, apresentando estas uma prevalência de infecção por parasitas GI de 63%, dos quais os mais prevalentes foram *Giardia* (44%), *T. canis* (26,3%) e *Cystoisospora* spp (26,3%).

A maior prevalência de infecções observadas em animais de canis quando comparados com animais provenientes de outros ambientes, ocorre por um lado devido ao facto de estes animais não fazerem uma adequada profilaxia com anti-helmínticos, e por outro, por estarem mais propensos a adquirirem a infecção dentro do canil devido aos efeitos imunossupressores do stress, contacto directo com outros animais e suas fezes e por contaminação ambiental (Robertson, Irwin, Lymbery & Thompson, 2000; Palmer *et al.*, 2008).

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Nemátodos

1.1 Ancilostomose

A ancilostomose é um processo parasitário relativamente frequente nos carnívoros domésticos e silvestres, causado por nemátodos da família Ancylostomatidae, que se localizam no intestino delgado, os quais se caracterizam pela sua hematofagia (Banos, Banos & Morondo Pelayo, 1999). Algumas espécies como *Ancylostoma caninum* (*A. caninum*) provocam a perda de grandes quantidades de sangue aos seus hospedeiros, enquanto espécies como *Uncinaria stenocephala* (*U. stenocephala*) removem quantidades mais reduzidas (Bowman, 2009).

Os ancilostomas que parasitam o cão doméstico, *Canis familiaris*, são *A. caninum*, *Ancylostoma braziliense* (*A. braziliense*), *Ancylostoma ceylanicum* (*A. ceylanicum*) e *U. stenocephala* (Bowman, Montgomery, Zajac, Eberhard & Kazacos, 2010).

A superfamília Ancylostomatoidea tem uma única família, Ancylostomatidae, que se divide em duas subfamílias, a Ancylostominae e a Bunostominae (Anderson, 2000).

A espécie *A. caninum* é transmissível ao homem, provocando enterite eosinofílica com dor abdominal (McGavin, Carlton & Zachary, 2001). A infecção do homem por *A. braziliense* provoca uma síndrome denominada por síndrome da larva migrante cutânea (Ettinger & Feldman, 2010).

1.1.1 Distribuição

A. caninum é a espécie de ancilostoma mais difundida de todas e pode ser encontrada em muitos locais do mundo. *A. braziliense* está limitado a regiões tropicais e sub-tropicais, incluindo a América Central e do Sul, as Caraíbas e parte dos Estados Unidos da América (Center for Food Security & Public Health [CFSPH], 2005a). *A. ceylanicum* parasita o cão, gato e homem no sudoeste asiático (Anderson, 2000). *U. stenocephala* ocorre normalmente em climas mais frios, incluindo Canadá, o norte dos Estados Unidos e Europa ([CFSPH], 2005a).

1.1.2 Etiologia

Os membros da família Ancylostomatidae caracterizam-se por possuir cápsula bucal bem desenvolvida (Banos *et al.*, 1999). As espécies de *Ancylostoma* possuem dentes afiados, enquanto os membros do género *Uncinaria* possuem placas cortantes (Bowman, 2009).

Os espécimes frescos de *A. caninum* apresentam uma coloração escura, medindo entre 1-2 cm, enquanto os adultos da espécie *U. stenocephala* são mais claros e apresentam dimensões inferiores (0,5-1,2 cm) (Bowman, 2009; Rochette, 2003). A extremidade anterior

do corpo encontra-se dobrada dorsalmente, dando uma aparência de gancho aos membros desta família (Kassai, 1999).

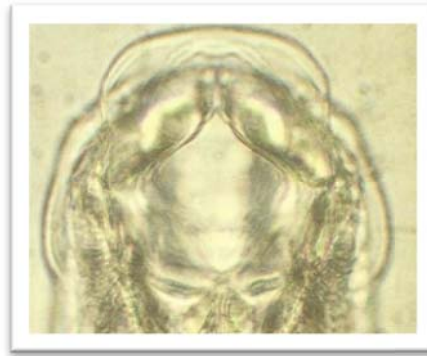
A subfamília Ancylostominae compreende três espécies de importância veterinária: *A. caninum*, descrito pela primeira vez por Ercolani em 1859, localiza-se no intestino delgado do cão. A sua cápsula bucal possui três pares de dentes afiados no bordo ventral e outro par de dentes no fundo da mesma (Figura 6). *Ancylostoma tubaeforme*, descrito por Zeder (1800) que é específico do gato, apresenta uma cápsula bucal semelhante à de *A. caninum*. *A. braziliense* descrito por Gómez de Faria (1910) parasita o cão, gato e outros carnívoros silvestres. Distingue-se morfologicamente pois possui dois pares de dentes na sua cápsula (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003; Bowman, 2009).

Figura 6: Cápsula bucal de *A. caninum*. Fonte: Rochette, 2003.



A subfamília Bunostominae inclui o género *Uncinaria*, com a espécie mais representativa, *U. stenocephala*, descrita pela primeira vez por Railliet em 1894 encontrando-se com mais frequência em zonas temperadas (Banos *et al.*, 1999), podendo inclusive sobreviver no Ártico (Rochette, 2003). Parasita o cão, gato, raposa (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn & Jennings, 1996) e lobo (Anderson, 2000). Raramente tem mais de 1 cm de comprimento (Banos *et al.*, 1999) e na margem ventral da cápsula bucal possui duas placas cortantes grandes e quitinosas em substituição de dentes (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003) (Figura 7). Os seus ovos são semelhantes aos do género *Ancylostoma*, apesar de ligeiramente maiores e mais cilíndricos (Banos *et al.*, 1999).

Figura 7: Cápsula bucal de *U. stenocephala*. Fonte: Rochette, 2003.



Segundo Anderson (2000) e Bowman (2009), o género *Uncinaria* pertence à subfamília Ancylostominae, ao contrário do que é referido por Banos *et al.* (1999) e exposto anteriormente.

1.1.3 Ciclo Biológico e Epidemiologia

Os ancilostomas que se localizam no intestino delgado dos carnívoros têm a espécie *A. caninum* como espécie modelo (Banos *et al.*, 1999).

O ciclo de vida é directo e em condições óptimas os ovos podem eclodir e desenvolverem-se até larvas do terceiro estágio (L3), o qual representa o estágio infeccioso, até um mínimo de 5 dias (Urquhart *et al.*, 1996). O período pré-patente (ppp) é de duas semanas, quer em *A. caninum*, quer em *U. stenocephala* (Foreyt, 2001).

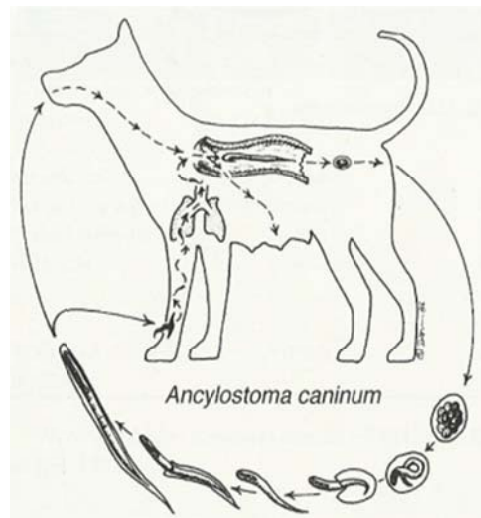
As fêmeas adultas depositam à volta de 16 000 ovos por dia (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003). Os ovos recém-eliminados, com 6-8 blastómeros, necessitam de condições adequadas de temperatura, humidade e oxigenação para o desenvolvimento das larvas de primeiro estágio (L1). Depois da eclosão as L1 mudam duas vezes no meio ambiente e convertem-se em L3, a forma infecciosa, as quais medem aproximadamente 630 µm, tendo um comportamento muito activo (Banos *et al.*, 1999).

Os ovos de *A. caninum* eclodem em 6-12 dias a 12°C, em 4-5 dias a 15°C, em 1,5-2 dias a 17°C, em 1 dia a 23°C, em 10-12 horas a 30°C e em 9 horas a 37°C. As L1 têm 300-340 µm de comprimento, com caudas cónicas e pontiagudas. As L2 têm 400-430 µm de comprimento. As larvas no estágio infeccioso (L3) têm aproximadamente 630 µm de comprimento e surgem em culturas em 22 dias a 15°C, em 9 dias a 17°C, em 4-5 dias a 23°C, em 58-66 horas a 30°C e em 47 horas a 37°C. As larvas não se desenvolveram até L3 a temperaturas inferiores a 15°C e a maior parte morreu a temperaturas superiores a 37°C (Anderson, 2000).

A infecção pode ocorrer por ingestão das L3 ou pela sua penetração cutânea activa (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*, 1999) (Figura 8). No caso de *U. stenocephala*, a infecção oral predomina sobre a percutânea (Banos *et al.*, 1999; Kassai, 1999; Rochette,

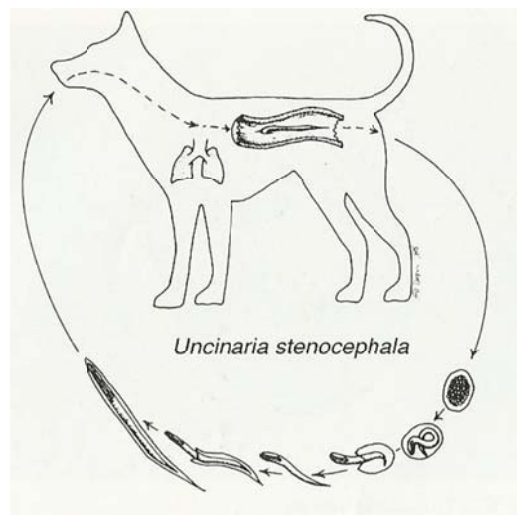
2003) não se verificando migração pulmonar (Banos *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 1996) (Figura 9).

Figura 8: Ciclo de vida de *A. caninum*. Fonte: Foreyt, 2001.



Na infecção por via oral as larvas ingeridas completam o seu desenvolvimento realizando duas mudas na mucosa do intestino delgado e assim chegam directamente a adultos (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003), isto depois de se instalarem nas glândulas intestinais (Kassai, 1999; Anderson, 2000; Rochette, 2003;)

Figura 9: Ciclo de vida de *U. stenocephala*. Fonte: Foreyt, 2001.



Na infecção por via cutânea, o percurso seguido pelas larvas está dependente da idade do hospedeiro. Em cachorros até os 3 meses de idade, as L3 penetram pela pele ou pela mucosa oral, alcançando assim os vasos sanguíneos e linfáticos, sendo transportados pela corrente sanguínea até ao coração e pulmões (Rochette, 2003), local onde mudam de estágio (Urquhart *et al.*, 1996). A partir dos alvéolos pulmonares, as L4 atingem os

bronquíolos, brônquios, traqueia e por fim a faringe (Rochette, 2003), sendo então deglutidas ([CFSPH], 2005a), chegando assim ao intestino delgado, onde se transformam em adultos. As L5 e os parasitas pré-adultos podem ser detectados no intestino a partir do dia 6 pós-infecção. Os adultos que põem ovos podem ser detectados a partir dos 17 dias (Rochette, 2003).

Em cães com mais de 3 meses de idade, as L3 não seguem uma migração pulmonar, ficando enquistadas nos tecidos, local onde sobrevivem como larvas hipobióticas ([CFSPH], 2005a). Esta migração somática tem especial importância nas cadelas, pois durante a gestação as larvas somáticas reactivam-se e são eliminadas pelo leite, infectando os cachorros durante as 3 primeiras semanas de lactação (Banos *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 1996;). A infecção lactogénica é muitas vezes responsável por graves anemias em ninhadas com cachorros com duas ou três semanas de vida (Urquhart *et al.*, 1996).

As larvas somáticas que ficam em estado de dormência nos músculos de cadelas ou de cães podem reiniciar a sua migração anos ou meses depois, podendo este processo ser precipitado pelo *stress*, doença grave ou doses elevadas de corticoesteróides administradas repetidamente (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*, 1999).

A infecção placentária ocorre raramente (Kassai, 1999; Rochette, 2003).

A. braziliense tem um ciclo biológico semelhante ao descrito para *A. caninum*, com a excepção da transmissão lactogénica (Banos *et al.*, 1999).

As larvas de *U. stenocephala* que penetram por via cutânea geralmente não completam o seu desenvolvimento (Banos *et al.*, 1999; Urquhart *et al.*, 1996), não existindo também registos de infecção por via lactogénica ou placentária (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003).

É possível a infecção por via de hospedeiros paraténicos, os quais podem ser infectados por via oral ou através da pele ([CFSPH], 2005a), acabando as L3 por persistir nestes hospedeiros, não se verificando contudo qualquer tipo de desenvolvimento (Bowman *et al.*, 2010), ficando as larvas dormentes em vários tecidos. Nos ratos, as larvas de *A. braziliense* e de *A. tubaeforme* são principalmente encontradas na cabeça, principalmente no epitélio nasofaríngeo e nas glândulas salivares. *A. caninum* e *U. stenocephala* são encontrados sobretudo nos músculos ([CFSPH], 2005a). A mosca-doméstica, *Musca domestica*, pode disseminar *A. caninum* (McGavin *et al.*, 2001). Se um hospedeiro definitivo ingere larvas presentes em hospedeiros paraténicos, elas são libertadas e completam o seu desenvolvimento até adultos ([CFSPH], 2005a), o que torna a infecção via predação uma possibilidade (Bowman *et al.*, 2010).

1.1.4 Patogenia

Os ancilostomídeos são essencialmente hematófagos, contudo cada vez mais se tem em conta o seu carácter histiófago. São parasitas que produzem anemia hemorrágica de

carácter agudo ou crónico, dependendo da intensidade da infecção, da idade do animal, do seu estado de nutrição, do nível de reservas de ferro e do grau de imunidade (Banos *et al.*, 1999).

A infecção por ancilostomas varia em termos de gravidade, desde uma infecção assintomática até uma hemorragia fatal, dependendo esta apresentação de determinados aspectos, entre os quais se encontram os seguintes (Bowman, 2009):

- Magnitude da infecção, a qual é determinada pela virulência e pelo número de ancilostomas. A virulência depende da espécie envolvida, sendo *A. caninum* muito mais patogénico que *U. stenocephala*, visto que consome quantidades muito superiores de sangue. O número de ancilostomas que infectam um determinado hospedeiro depende bastante do grau de exposição às larvas infectantes, o qual por sua vez está dependente da extensão com que os hospedeiros infectados contaminaram o ambiente através da transmissão de ovos pelas fezes e da adequabilidade do substrato (gravilha e areia são os pisos mais propícios), temperatura e humidade para o desenvolvimento e sobrevivência das L3.
- Resistência do hospedeiro, que está dependente da sua capacidade para:
 - 1) Limitar o número de ancilostomas que maturam no intestino delgado, a qual é influenciada pela idade, premunicação e imunidade adquirida. À medida que os cães crescem, vão-se tornando mais resistentes aos ancilostomas, quer tenham ou não sido infectados. A imunidade adquirida a partir de infecções prévias confere um aumento de resistência, sendo contudo, este facto difícil de distinguir da influência do avançar da idade e da acentuada inibição de infecções anteriores exercida por uma população residual de ancilostomas (premunicação).
 - 2) Compensar a perda de sangue provocada pelos ancilostomas, que por sua vez é influenciada pela capacidade hematopoiética, pelo estado de nutrição do indivíduo e pela presença ou ausência de outros factores indutores de stress.

A. caninum é a espécie mais patogénica. Tende a afectar mais os cães rurais que cães urbanos. Suspeita-se que deficiências nutricionais proteicas, de vitamina B₁, ou ferro, associadas às condições de vida destes animais (espaços reduzidos, sujidade e humidade nos solos que favorecem em grande escala o aparecimento de L3 no Verão e Outono) estejam na origem destas discrepâncias. Parece possuir importância considerável a ocorrência de associação com outras parasitoses como a toxocarose mas sobretudo a tricuriose (Banos *et al.*, 1999)

Os ancilostomas alimentam-se no epitélio da mucosa do intestino delgado, preferencialmente no jejuno, mudando de local a cada 15 minutos (Kassai, 1999). Fazem

movimentos vigorosos de sucção, ingerindo fluídos dos tecidos, muco e *bolus* de mucosa, assim como sangue. A lesão provocada pela fixação, depois do parasita mudar de um ponto de adesão para outro, continua a perder sangue, durante pelo menos 30 minutos. Assim sendo, a perda de sangue que ocorre nas infecções por ancilostomas é resultado da ingestão de sangue pelo parasita e da ulceração intestinal multifocal (McGavin *et al.*, 2001).

Os ancilostomas utilizam como principal fonte de nutrição a hemoglobina existente nos eritrócitos. Estes são ingeridos inteiros e posteriormente hemolizados (proteínas hemolíticas formam poros na membrana dos eritrócitos levando ao seu esvaziamento osmótico) (Don *et al.*, 2004).

A doença é mais frequentemente observada em cães com menos de um ano de idade. Os cachorros infectados por via lactogénica são particularmente susceptíveis devido às suas reduzidas reservas de ferro (Urquhart *et al.*, 1996; Kassai, 1999).

A perda de sangue tem início por volta do oitavo dia pós-infecção, altura em que o adulto imaturo desenvolveu a cápsula bucal armada com dentes que permite a fixação a pedaços da mucosa que contêm arteríolas (Urquhart *et al.*, 1996). A perda de sangue atinge um máximo por volta do vigésimo dia, altura em que a fêmea começa a pôr ovos (Rochette, 2003). Urquhart *et al.* (1996) referem que cada ancilostoma remove diariamente cerca de 0.1 ml de sangue, contudo dados mais recentes indicam valores ligeiramente inferiores: 0,01-0,09 ml por parasita (Rochette, 2003). Devido ao efeito anticoagulante presente nas enzimas digestivas dos ancilostomas, a hemorragia mantém-se durante algum tempo através das pequenas erosões provocadas pelos ancilostomas na mucosa intestinal, após a já referida mudança de local (Kassai, 1999; Rochette, 2003).

Em infecções mais leves, comuns em cães mais velhos, a anemia não é tão grave, já que a medula consegue compensar a perda de sangue durante um período de tempo variável. No entanto, a dada altura a infecção pode provocar no animal uma deficiência de ferro, desenvolvendo-se assim uma anemia hipocrómica microcítica (Urquhart *et al.*, 1996).

Pode-se verificar em determinadas situações, sobretudo quando perante infecções intensas, a entrada em circulação das secreções anti-coagulantes dos ancilostomídeos, provocando uma alteração da coagulação normal. Também se tem observado um aumento da coproporfirina I na urina, que retoma os seus níveis normais depois do tratamento ou quando a intensidade da infecção diminui (Banos *et al.*, 1999).

1.1.5 Sinais Clínicos

Os sintomas provocados por ancilostomas adultos variam de acordo com a carga parasitária, a idade do animal ([CFSPH], 2005a; Rochette, 2003) e a dieta. Geralmente, os sintomas são mais graves nos animais jovens ([CFSPH], 2005a).

Os cachorros infectados, mas também animais mais velhos que nunca contactaram com o parasita, apresentam ocasionalmente sangue oculto nas fezes, melena e sinais de início de

anemia (Epe, 2009), tais como fraqueza, anorexia e desidratação ([CFSPH], 2005a). Durante a migração larvar surge tosse, descarga nasal, febre, entre outros sinais de pneumonia. Na sequência de infecções graves, os cachorros podem morrer devido a perdas elevadas de sangue e diarreia (Epe, 2009).

Eventualmente poderão surgir lesões na pele, correspondentes ao local onde a larva penetrou, com um aspecto de um eczema supurativo ou ulcerado. Quando surge nos membros, este tipo de lesão pode-se agravar devido ao facto de o cão lambem e morder incessantemente o local (Rochette, 2003). Nas fêmeas lactantes pode surgir agaláxia (Kassai, 1999).

Nas infecções crónicas, o animal encontra-se geralmente com uma má condição corporal, pelagem em mau estado e anorexia (Urquhart *et al.*, 1996).

A. braziliense e *U. stenocephala* não são consumidores vorazes de sangue e como tal não provocam anemia ou melena. Contudo, podem provocar doença entérica, incluindo diarreia e enteropatia com perda de proteína ([CFSPH], 2005a).

1.1.6 Lesões

Devido ao facto de os parasitas adultos aderirem à mucosa intestinal e mudarem constantemente de posição, surgem à necropsia pequenas hemorragias punctiformes. As vilosidades intestinais podem estar fundidas. A lâmina própria surge com sinais de inflamação e fibrose, o que acentua a doença ao causar má-absorção (Jones, Hunt & King, 1997). As ulcerações estão geralmente presentes na mucosa à volta de folículos linfóides solitários e ao longo dos limites da válvula ileocólica. Esta lesão, uma valvulite ileocólica, tem sido observada na necrópsia de cachorros jovens, muitas vezes em vários cachorros da mesma ninhada. O limite da válvula ileocólica contém vários nódulos na mucosa. Estes nódulos encontram-se elevados, brilhantes e com uma coloração preto-avermelhada, tendo dois a quatro milímetros de diâmetro. Raramente se encontram ancilostomas aderentes (McGavin *et al.*, 2001).

Em infecções graves, a migração larvar provoca hemorragias pulmonares e pneumonia. A entrada pela pele provoca uma dermatite, que é mais grave em animais previamente sensibilizados e caracteriza-se por áreas irregulares e avermelhadas, podendo apresentar-se também sob a forma de túneis serpenteantes lineares com 1-2 mm de diâmetro que se estendem por alguns centímetros (Jones *et al.*, 1997).

1.1.7 Diagnóstico

Baseia-se nos sinais clínicos e no exame coprológico (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*, 1999; Kassai, 1999; Rochette, 2003) por métodos de flutuação (Banos *et al.*, 1999; Kassai, 1999). Outros parâmetros, tais como o hematócrito (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*,

1999) e a necropsia pós-morte (Kassai, 1999) poderão ser igualmente úteis (Urquhart *et al.*, 1996; Banos *et al.*, 1999; Kassai, 1999).

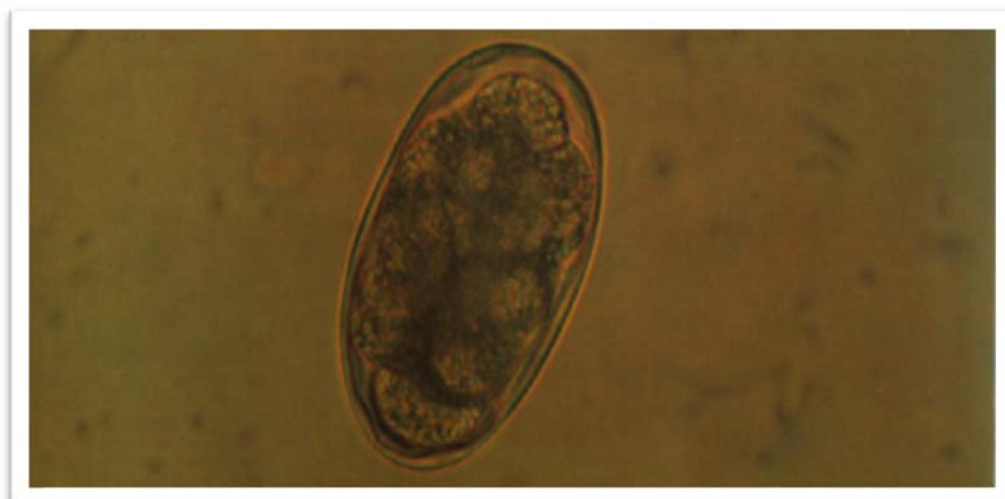
Os ovos de todas as espécies de ancilostomas são ovais ou elipsoides, de parede fina e contêm uma mórula com 8 a 16 células quando são excretados nas fezes. Visto os ovos embrionarem rapidamente no meio ambiente (tão cedo como 48 horas), são necessárias fezes frescas para o diagnóstico coprológico de infecções por ancilostoma (Hendrix, 1998). É difícil a distinção entre os ovos de *Ancylostoma* spp. (56 – 65 µm de comprimento e 37 – 43 µm de largura) (Figura 10) e os ovos de *U. stenocephala* (63 – 80 µm de comprimento e 35 – 50 µm de largura) (Figura 11) (Thienpont, Rochette & Vanparijs, 1986), os quais são ligeiramente mais alongados e estreitos (Banos *et al.*, 1999).

Figura 10: Ovo de *A.caninum*. Ampliação 750x. Adaptado: Thienpont *et al.*, 1986.



Pode-se recorrer à cultura de larvas e à sua identificação microscópica. O diagnóstico *post-mortem* é simples de ser efectuado devido às lesões intestinais e à presença de numerosos adultos (Banos *et al.*, 1999).

Figura 11: Ovo de *U. stenocephala*. Ampliação 800x. Adaptado: Thienpont *et al.*, 1986.



Visto as fêmeas de ancilostoma serem produtoras prolíficas de ovos, as populações de larvas infecciosas surgem em maior número quando as condições climáticas se tornam favoráveis para o seu desenvolvimento e sobrevivência. Assim, as infecções por ancilostoma ocorrem mais frequentemente durante o final da primavera, no verão e no início do outono em climas temperados, sobretudo quando dias amenos são acompanhados por uma quantidade adequada de chuva (Bowman, 2009).

1.1.8 Tratamento

Os anti-helmínticos recomendados contra as infecções provocadas por ancilostomas são o pamoato de pirantel, diclorvos, mebendazol, febantel, febendazol, milbemicina oxima, nitroscanato, albendazol, tiabendazol, ivermectina, levamisol, selamectina, entre outros, administrados por via oral ou *spot-on* ([CFSPH], 2005a; Bowman, 2009).

O pamoato de pirantel pode ser administrado a cachorros com 2 semanas para controlar as infecções de *A. caninum* adquiridas por via lactogénica. Está indicado repetir o tratamento às 4, 6 e 8 semanas. As cadelas devem ser desparasitadas ao mesmo tempo que as suas ninhadas e pelo menos uma vez durante a gestação (Banos *et al.*, 1999). Nas cadelas gestantes, a eficácia dos anti-helmínticos pode estar reduzida devido à falta de ferro (Rochette, 2003).

Tratamento sintomático (reposição de fluídos, Vitamina B₁₂, suplementação parenteral de ferro) e uma dieta rica em proteína podem ser necessários (Kassai, 1999).

Em situações complicadas por infecções bacterianas secundárias, está indicado antibioterapia, sobretudo se se verificar a existência de hipertermia (Banos *et al.*, 1999).

Os anti-helmínticos parecem ser menos eficazes contra infecções por *U. stenocephala* ([CFSPH], 2005a).

1.1.9 Controlo e Profilaxia Imunitária

Um saneamento rotineiro das jaulas e dos locais de passeio dos animais, além da administração periódica de anti-helmínticos a todos os cães adultos, são medidas essenciais para reduzir o grau de contaminação ambiental por larvas de ancilostoma. Se existirem registos anteriores de infecção lactogénica, é essencial examinar diariamente as mucosas de cada cachorro, desde o sétimo dia de vida até ao desmame, sendo necessário administrar um anti-helmíntico ao primeiro sinal de anemia. Cadelas gestantes com passado de perda de ninhadas podem ser tratadas diariamente com febendazol, 50 mg/kg, desde o quadragésimo dia de gestação até ao décimo quarto dia de lactação, para prevenir futuras perdas. Este tratamento é direccionado contra as larvas reactivadas e é eficaz, apesar do seu elevado custo. Também foi demonstrado na cadela gestante que um tratamento à base de ivermectina (0,5 mg/kg de peso vivo administrado quatro a nove dias antes do parto, seguido por um segundo tratamento dez dias depois) pode prevenir a infecção lactogénica nas crias (Bowman, 2009).

O piso dos canis ou das zonas de exercício dos animais devem estar secos e limpos (Banos *et al.*, 1999), além de não ter fissuras e de as camas serem renovadas diariamente (Urquhart *et al.*, 1996). Os pisos devem desinfectar-se com borato sódico (0,5 kg/m²) ou com hipoclorito sódico a 1% de forma a destruir as larvas de ancilostoma. Esta desinfecção pode igualmente ser feita com soda cáustica quente ou limpeza à base de vapor de água a pressão (Banos *et al.*, 1999).

Uma vacina com larvas irradiadas de *A. caninum* foi desenvolvida nos EUA (Kassai, 1999), não existindo contudo vacinas comerciais actualmente, devido ao alto custo de produção e ao seu período de actividade relativamente curto, comparado com as vacinas inactivadas ou liofilizadas, que juntando à sua escassa viabilidade comercial, obrigaram à retirada do mercado desta vacina (Banos *et al.*, 1999). Este pouco interesse comercial pela vacina irradiada também se justifica pelo facto de a resistência natural se desenvolver com bastante rapidez a partir do 8º mês nas fêmeas e a partir do 11º mês nos machos (Rochette, 2003).

Um método de controlo biológico em estudo prende-se com a utilização por via oral em caninos de fungos nematófagos da espécie *Monacrosporium thaumasium* no controlo de Larvas L3 de *Ancylostoma* spp no solo, reduzindo assim a contaminação ambiental e a re-infecção em cães. Estes fungos produzem teias que capturam os nemátodos, seguindo-se penetração hifal da cutícula, crescimento hifal e digestão do conteúdo interno (Carvalho *et al.*, 2009).

1.1.10 Natureza zoonótica dos ancilostomas

Os cães são portadores de espécies de ancilostoma que podem ser responsáveis por doenças zoonóticas, sendo a mais comum, a síndrome da larva migrante cutânea (SLMC)

(Bowman *et al.*, 2010), em que *A. braziliense* é a espécie responsável pela maior parte dos casos ([CFSPH], 2005a; Bowman *et al.*, 2010). Outras apresentações zoonóticas podem surgir graças principalmente à acção de *A. caninum* que pode provocar foliculite, miosite e enterite eosinofílica. *A. ceylanicum* pode-se desenvolver até adulto no homem (Bowman *et al.*, 2010).

A SLMC é uma zoonose adquirida pelo homem quando em contacto com um ambiente contaminado com larvas de ancilostoma (Rochette, 2003), sobretudo da espécie *A. braziliense*, contudo casos esporádicos ou experimentais com larvas de *A. caninum* e *U. stenocephala* também estão descritos (Bowman, 2009). Na Europa, a infecção humana com larvas de ancilostoma dos cães aparenta ser pouco frequente, devido aos hábitos de higiene instituídos e à baixa incidência de ancilostomas nos cães (Rochette, 2003). A maior parte das lesões surge nas pernas, calcanhares e mãos, mas podem ser encontradas em qualquer local do corpo que tenha sido exposto ao solo contaminado com larvas. Inicialmente, pode-se sentir um ligeiro prurido ou formigueiro no local onde as larvas penetraram na pele, seguindo-se uma pápula na mesma localização. A lenta migração das larvas na pele resulta numa reacção alérgica nos locais por onde passam. As lesões podem incluir pápulas assim como dermatites não-específicas, vesículas ou linhas eritematosas, ligeiramente elevadas, com percurso estreito e serpenteante (Figura 12). A presença de dor é ocasionalmente referida, geralmente em associação com vesículas. Infecções bacterianas secundárias podem surgir devido ao acto de coçar. A maior parte dos casos resolve-se espontaneamente, desde dois dias até algumas semanas. No entanto, existem registos de lesões que duraram mais de um ano ([CFSPH], 2005a)

Geograficamente, a distribuição da SLMC parece espelhar a distribuição geográfica de *A. braziliense*. De tal forma, que a maior parte dos registos se refere a turistas que frequentaram praias em regiões nas quais *A. braziliense* é endémico nos cães e gatos (Bowman *et al.*, 2010).

Figura 12: Larva migrante cutânea. Fonte: Original.



A mais recente adição ao espectro da ancilostomose zoonótica é a enterite eosinofílica causada por *A. caninum* (McCarthy & Moore, 2000). A enterite eosinofílica é uma infecção intestinal zoonótica caracterizada por dor abdominal, mas sem perda de sangue. Casos mais graves podem imitar uma apendicite ou uma perfuração intestinal. Algumas infecções podem ser assintomáticas ([CFSPH], 2005a).

As medidas gerais de prevenção são a utilização de calçado protector nas praias, cobrir as caixas de areia, limpar as fezes dos animais, evitar que cães e gatos defequem em áreas públicas, evitar que as pessoas se deem directamente na areia da praia que não tenha sido lavada pela maré (Bowman *et al.*, 2010).

Os ancilostomas podem ser adquiridos por ingestão e por contacto com a pele. Assim, água em risco de contaminação deve ser sempre fervida antes de ser utilizada e alimentos potencialmente contaminados deverão ser evitados. Deve-se lavar sempre as mãos antes das refeições e depois do contacto com terra ou outras potenciais fontes de ancilostomas ([CFSPH], 2005a).

1.2 Ascaridoses

As ascaridoses são provocadas pelas espécies pertencentes ao género *Toxocara* e *Toxascaris* cujos adultos se localizam no intestino delgado de cães, gatos e outros carnívoros selvagens (Banos *et al.*, 1999). Os parasitas adultos vivem no intestino provocando atrasos no crescimento e obstrução ocasional em cães jovens. Uma característica importante do grupo são as consequências patológicas originadas pelo

comportamento migratório dos estádios larvares (Urquhart *et al.*, 1996). Os ascarídeos dos carnívoros têm distribuição mundial e encontram-se entre os endoparasitas mais frequentes destes hospedeiros. São nemátodos da ordem Ascaridida, superfamília Ascaridoidea e família Ascarididae. O género *Toxocara* inclui duas espécies: *Toxocara canis* (*T. canis*) que parasita o cão e *Toxocara cati* que se encontra no gato e outros felídeos selvagens. A outra espécie, *Toxascaris leonina* (*T. leonina*) é menos frequente e pode afectar indistintamente cães e felinos (Banos *et al.*, 1999).

1.2.1 Toxocarose canina

Os membros da espécie *T. canis* são um parasita comum dos canídeos e menos frequentemente, dos gatos (Anderson, 2000). São parasitas de cor branca, com duas asas cervicais elípticas laterais distintas na cabeça e três lábios bem desenvolvidos (Rochette, 2003). Têm um bulbo esofágico glandular (o ventrículo), localizado na junção do esófago com o intestino (Bowman, 2009). O extremo posterior é obtuso nas fêmeas e nos machos digitiforme com duas espículas desenvolvidas (Banos *et al.*, 1999). As dimensões do parasita dependem da sua idade e do número de espécimes presentes no hospedeiro. Os machos geralmente tem entre 5-10 cm de comprimento. A cauda e as espículas são onduladas no final. As fêmeas são duas vezes maiores que os machos (9-18 cm). Estes parasitas encontram-se distendidos no intestino em forma de “S”. Como adultos atingem uma idade média de 4 meses no seu hospedeiro e são eliminados espontaneamente após os 6 meses (Rochette, 2003).

Os ovos são esféricos (Banos *et al.*, 1999), ou quase esféricos, têm 75 – 90 µm de diâmetro, de coloração preta ou acastanhada, com uma cobertura rugosa (Kassai, 1999). Não são segmentados e o seu conteúdo ocupa praticamente todo o espaço interior (Banos *et al.*, 1999).

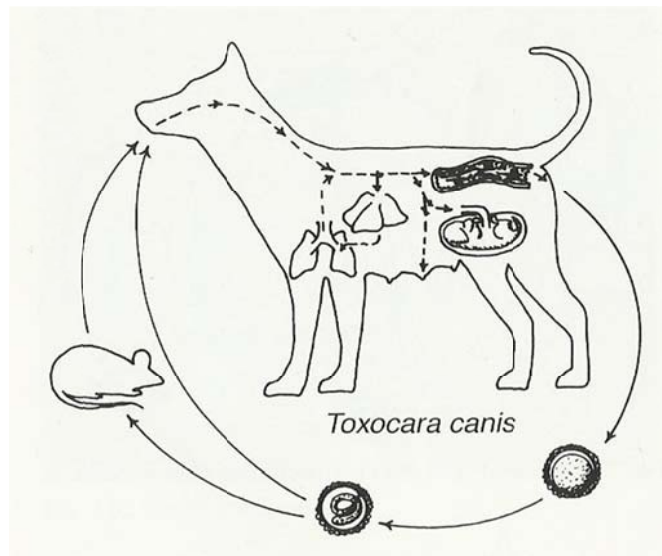
1.2.1.1 Ciclo biológico

As fêmeas depositam os ovos não-segmentados no intestino delgado, que saem com as fezes e são extraordinariamente resistentes, pois permanecem viáveis desde vários meses até mais de um ano (Banos *et al.*, 1999). Larvas completamente desenvolvidas surgem em ovos após 9 dias, quando incubadas a 26° - 30° C e em 11 – 18 dias quando mantidas a 30°C. Os ovos de *T. canis* não embrionam no escuro, ao contrário do que sucede com os ovos de *T. leonina* (Anderson, 2000).

A fase infecciosa é a L2 que permanece dentro do ovo, depois da primeira muda, até à sua ingestão por um hospedeiro. A libertação das L2 ocorre no cão mas também podem infectar hospedeiros paraténicos em cujos tecidos se encapsulam e permanecem infectantes (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003).

A opinião referente ao estágio infeccioso de *T. canis* não é consensual. Em 1994, Brunaska, Dubinsky e Reiterova fizeram um estudo com recurso à microscopia electrónica para analisar a morfologia das larvas de *T. canis* presentes no ovo em desenvolvimento. Os autores concluíram que ocorrem duas mudas no interior do ovo em desenvolvimento e assim a fase infecciosa do ovo de *T. canis* será a L3 e não a L2. Num artigo de revisão da matéria escrito recentemente, os autores partilham dessa mesma opinião (Schnieder, Laabs & Welz, 2010). Apesar da aparente discordância observada na bibliografia relativamente ao tema em questão, no seguimento deste trabalho a fase infecciosa considerada será a L2. Esta espécie tem o ciclo evolutivo mais complexo na superfamília com quatro modos possíveis de infecção (Urquhart *et al.*, 1996): directa, através da ingestão de ovos embrionados; placentária; lactogénica e através de hospedeiros paraténicos (Figura 13) (Banos *et al.*, 1999).

Figura 13: Ciclo de vida *T. canis*. Fonte: Foreyt, 2001.



Após ingestão, os ovos eclodem no intestino delgado (Urquhart *et al.*, 1996), as L2 resultantes passam à circulação sanguínea e iniciam uma longa migração intra-orgânica, denominada por migração do tipo ascaróide. Às 24 – 48h chegam ao fígado por via portal. Algumas ficam aqui retidas devido a reacções inflamatórias tecidulares, enquanto outras continuam até aos pulmões através da circulação, passando pelas veias hepáticas e cava posterior, pelo coração direito e pela artéria pulmonar (Banos *et al.*, 1999).

As L2 representam o estágio infeccioso, que depois da sua chegada aos pulmões, podem seguir duas vias, de acordo com a idade do cão. A migração traqueo-digestiva ocorre geralmente em cachorros com menos de seis semanas e tem início com o atravessar dos alvéolos e a subida pela árvore bronquial para ser deglutida com as secreções traqueo-bronquiais e passar ao aparelho digestivo. O desenvolvimento continua no estômago e termina no intestino, mudando para L5 e alcançando o estado adulto em 3-5 semanas pós –

infecção, com a consequente eliminação de ovos com as fezes. Nos cães com mais de seis semanas, a maior parte das L2 que chegam aos pulmões já não passam ao lúmen alveolar, continuando na circulação e acabando por ser distribuídas pelo organismo (migração somática). As larvas invadem os pulmões, fígado, rins, útero, glândulas mamárias, músculos esqueléticos, entre outros, permanecendo nestes órgãos durante meses e anos, sem prosseguir o seu desenvolvimento. Esta migração somática também tem lugar quando o homem e outros hospedeiros não-habituais são infectados com *T. canis* (Banos *et al.*, 1999). O pulmão é então um órgão crucial no qual as larvas ou migram em direcção ao intestino para estabelecer uma infecção patente ou então seguem para os tecidos somáticos onde vão enquistar. Estes percursos estão dependentes da idade e do sistema imunitário do hospedeiro, assim como da dose infecciosa. Este fenómeno é referido em inglês como *age resistance*, o qual consiste no desenvolvimento de um sistema imunitário competente e de uma imunidade adquirida (Schnieder *et al.*, 2010).

O principal mecanismo de infecção por *T. canis* nos cães é o transplacentário, logo seguido pelo lactogénico (Banos *et al.*, 1999). Durante o estro, parte das larvas somáticas são mobilizadas (Rochette, 2003), visto que o estágio imunitário e hormonal das cadelas nesta fase provoca a reactivação das larvas tecidulares (Banos *et al.*, 1999; Schnieder *et al.*, 2010), entrando estas na circulação sanguínea. Se a cadela não fica gestante, a larva acabará por morrer lentamente e assim o seu desenvolvimento não se efectuará (Rochette, 2003). Contudo, se a cadela ficar gestante, a partir do 40º – 42º dia de gestação, as larvas somáticas já activadas são mobilizadas para a placenta e glândulas mamárias (Banos *et al.*, 2003).

Algumas larvas passam à circulação placentária, atingindo assim o feto. O número de larvas que atinge o feto aumenta à medida que se chega ao final da gestação. As larvas entram no fígado fetal através do cordão umbilical. Este órgão constitui o reservatório a partir do qual as larvas que infectaram um cachorro no útero se estendem até aos pulmões depois do seu nascimento. As larvas mudam para L3 no fígado fetal, antes do nascimento. Depois do nascimento passam para L4 e L5 nos pulmões e no aparelho digestivo, convertendo-se em adultas entre a primeira e a segunda semana de vida do cachorro (Rochette, 2003).

A partir do momento em que a cadela se infecta, esta pode produzir várias ninhadas com cachorros infectados sem necessidade de voltar a ingerir ovos infectados (Banos *et al.*, 1999; Rochette, 2003).

Depois da activação, as larvas somáticas presentes na cadela também são transmitidas pelo colostro e pelo leite. Depois da ingestão pelos cachorros, as larvas desenvolvem-se sem recurso a migração traqueal (Overgaauw & van Knapen, 2008; Banos *et al.*, 1999), tornando-se directamente em adultos no intestino (Banos *et al.*, 1999). As larvas são transmitidas pelo leite da cadela pelo menos durante 38 dias pós-parto (Overgaauw & van Knapen, 2008). A transmissão lactogénica tem menor impacto na carga parasitária total do

cachorro do que a transmissão placentária (Rochette, 2003; Overgaauw & van Knapen, 2008), estimando-se que corresponda a apenas 1,5-4,5% da carga parasitária total do cachorro (Banos *et al.*, 1999). Contudo, quando a fêmea é infectada no pós-parto, a transmissão lactogénica apresenta-se como uma forte oportunidade para o parasita infectar novos hospedeiros (Schnieder *et al.*, 2010).

A quantidade de larvas que são transmitidas aos cachorros na fase pré-natal ou através do leite materno depende da altura em que a mãe se infectou. Se a infecção materna ocorrer antes do último quarto do período de gestação a infecção fetal será normalmente placentária. Caso a infecção materna ocorra durante o último quarto do período de gestação, esta origina uma infecção por via lactogénica. Quanto mais se aproxima o momento da infecção da mãe do momento do parto, mais elevado vai ser o número de larvas no leite (Rochette, 2003).

Os cães podem também ser infectados através da ingestão de hospedeiros paraténicos, que transportam larvas de *T.canis* nos seus tecidos. Este tipo de hospedeiro inclui aves, pequenos roedores (ratos), coelhos, porcos, raposas e humanos. Estes hospedeiros infectam-se quando ingerem ovos embrionados de *T. canis* (Schnieder *et al.*, 2010), sendo que após a eclosão, as L2 não passam por qualquer tipo de muda, não crescem nem se replicam (Kayes, 2006). Quando o cão ingere as larvas presentes em hospedeiros paraténicos, não se observa migração hepato-pulmonar, já que as larvas começam por penetrar na mucosa gástrica, retornando depois ao lúmen, atingindo a fase adulta cerca de 3 semanas depois (Kassai, 1999). Vários estudos demonstraram que as infecções por *Toxocara* induzem uma clara alteração comportamental nos ratos, os quais actuam como modelo para hospedeiros paraténicos. Os ratos infectados tornam-se menos activos, menos exploratórios e menos aversivos a áreas abertas, ficando então em maior risco de serem capturados por predadores (Schnieder *et al.*, 2010). Os membros do género *Toxascaris* também podem promover infecção via hospedeiros paraténicos (Rochette, 2003).

Deve-se ter em conta que cães adultos podem desenvolver infecções (ou reinfeções) patentes por *T. canis*, sobretudo se confrontados com números reduzidos de larvas infecciosas (Bowman, 2009; Schnieder *et al.*, 2010). Este facto foi comprovado por Fahrion, Staebler e Deplazes (2008), num estudo em que utilizou cães com idades compreendidas entre os 8 e 10 meses, em que parte dos animais tinha historial de infecção vertical por *Toxocara* e a outra parte nunca tinha contactado com o parasita. No seguimento de inoculações com doses baixas de ovos (100 ovos embrionados), foram observadas infecções patentes e baixas doses de anticorpos em ambos os grupos.

1.2.1.2 Epidemiologia

Vários estudos relativos à prevalência de *T. canis* foram efectuados em diversos países, obtendo-se taxas de infecção com valores que variam entre os 5% e 80%. As prevalências

mais altas foram registadas em cães com menos de 6 meses de idade (Urquhart *et al.*, 1996).

As fêmeas de *T. canis* são bastante prolíficas (Urquhart *et al.*, 1996; Kassai, 1999; Banos *et al.*, 1999), pois podem libertar até 200 000 ovos por dia, de tal forma que nas coprologias dos cachorros são comuns eliminações de vários milhões de ovos por grama de fezes, os quais resistem bem às condições do meio e a muitos desinfectantes de uso comum (Banos *et al.*, 1999).

Existe um reservatório constante de infecção nos tecidos somáticos da cadela, sendo as larvas nestes locais insensíveis à maioria dos anti-helmínticos (Urquhart *et al.*, 1996), fazendo com que em situações de criação de cachorros, a cadela ostente um papel primordial na epidemiologia de *T. canis* pois esta vai abrigar a maior parte do reservatório de larvas infecciosas que não estejam presentes no solo (Bowman, 2009).

Algumas cadelas desenvolvem infecções patentes durante a lactação, que surgem devido à migração das larvas somáticas para o intestino ou pela ingestão de larvas presentes nas fezes dos seus cachorros. Estas infecções desaparecem espontaneamente entre 4 a 10 semanas pós-parto (Center for Food Security & Public Health [CFSPH], 2005b).

Como referido anteriormente, os ratos e outros hospedeiros paraténicos de pequenas dimensões podem ter um importante papel na epidemiologia da infecção por *Toxocara* e *Toxascaris* (Bowman, 2009), já que passam a transportar larvas nos seus tecidos durante toda a vida após a ingestão de ovos embrionados ([CFSPH], 2005b). Assim, as larvas somáticas presentes nos hospedeiros paraténicos e a relação presa-predador são um modelo epidemiológico a ter em conta nos ascarídeos dos carnívoros, nos quais se incluem além dos já referidos *T. canis* e *T. leonina* no cão, também *T. cati* no gato e *Baylisascaris procyonis* (*B. procyonis*) nos guaxinis (*Procyon lotor*) (Bowman, 2009).

As minhocas e os pequenos mamíferos desempenham um papel relevante na dispersão dos ovos a partir de um ponto de origem. As minhocas deitam fora enormes quantidades de terra processada (parcialmente digerida) até à superfície do terreno, trazendo-a desde profundidades até 60 cm. Os ovos viáveis ficam incorporados nas suas fezes e são posteriormente alvo de distribuição aleatória pelo vento ou chuva. Mamíferos peridomésticos, como por exemplo o cão, o gato ou o esquilo, desempenham um papel semelhante ao das minhocas, embora menos eficiente, na dispersão dos ovos embrionados. Pássaros que se alimentem sobretudo no chão, como os pombos, estorninhos e os pardais, podem actuar como fonte de transporte, levando os ovos nos seus pés e bicos, de lugar a lugar, podendo ser responsáveis pela deposição de ovos em locais muito distantes da fonte de origem (Despommier, 2003).

1.2.1.3 Patogenia

A migração das larvas nos tecidos do hospedeiro provoca lesão tecidular. Cerca de 24-72h pós-infecção pode surgir em alguns cães uma enterite muco-sanguinolenta, devido à penetração da parede intestinal pelas larvas. A chegada das larvas ao pulmão poderá ser acompanhada de tosse e dispneia. A colonização final do intestino geralmente não causa mais do que uma enterite limitada a moderada, sendo no entanto que em casos de infecções massivas pode ocorrer obstrução e mesmo ruptura intestinal. Uma colonização intensa pode igualmente fazer com que ascarídeos adultos invadam os ductos biliares, perfurando o parênquima do fígado e por fim entrar na cavidade abdominal através da cápsula do fígado, o que leva invariavelmente a uma peritonite generalizada e incurável, que pode ser exacerbada caso as fêmeas continuem a produzir e libertar ovos (Meireles & Peleteiro, 1989; Schnieder *et al.*, 2010).

Estes parasitas não se encontram ancorados na parede do intestino, vivendo livres no lúmen intestinal, alimentado-se de quimo. O seu conteúdo intestinal é esvaziado a cada três minutos e visto que não são consumidores de sangue encontram-se submersos na comida que chega ao intestino do hospedeiro, alimentado-se através da cápsula bucal de nutrientes, principalmente hidratos de carbono (Rochette, 2003) mas também vitaminas e prótidos (Banos *et al.*, 1999).

1.2.1.4 Sinais Clínicos

Os sinais clínicos dependem da idade do animal e do número, localização e estágio de desenvolvimento dos parasitas (Overgaauw & van Knapen, 2008).

Depois do nascimento, os cachorros recém-nascidos podem sofrer de pneumonia provocada pela migração traqueal, a qual pode provocar a sua morte em dois ou três dias. Com aproximadamente duas semanas, os cachorros podem apresentar emaciação e distúrbios digestivos provocados por parasitas adultos presentes no estômago e intestino. Diarreia, constipação, vômito, tosse e corrimento nasal poderão ser observados durante o exame clínico. Pode ocorrer dilatação abdominal, provavelmente como resultado da formação de gás provocada pela disbacteriose presente (Figura 14) (Overgaauw & van Knapen, 2008). Infecções graves podem provocar ascite, degenerescência gorda do fígado, pneumonia bacteriana secundária ou problemas crónicos no crescimento. A miocardite é uma complicação rara (ICFSPH, 2005b).

Se a infecção persistir, os cachorros e os cães adultos apresentarão um mau estado geral, mesmo que tenham acesso a uma dieta de boa qualidade, estando desnutridos e apresentando uma anemia hipocrômica. O metabolismo cálcio/fósforo está alterado, provocando raquitismo. O pêlo surge sem brilho, muito quebradiço e a pele com descamação (Rochette, 2003). A doença pode também provocar sintomatologia nervosa (Rochette, 2003; Banos *et al.*, 1999), que pode ser devido a larvas erráticas no sistema

nervoso central (SNC) ou à ação irritativa dos adultos no intestino (Banos *et al.*, 1999). A diarreia surge ocasionalmente (Rochette, 2003). Sinais oculares, como celulite orbital e doença retinal multifocal estão descritos (JCFSPH, 2005b).

Figura 14: Aspecto abdominal característico de um cachorro com *T. canis*. Fonte: Schnieder *et al.*, 2010.

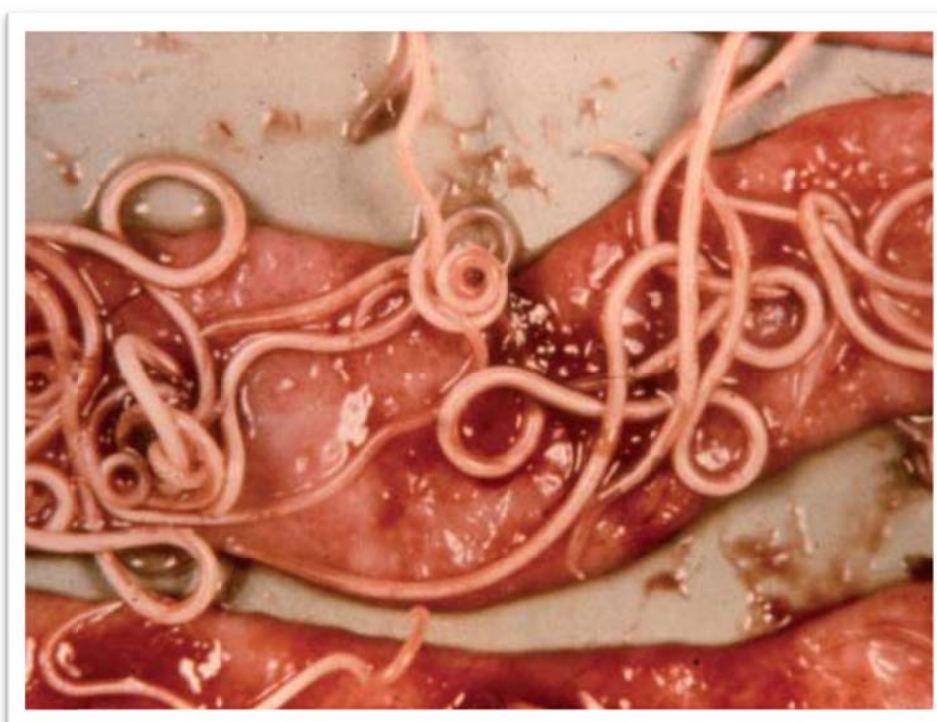


1.2.1.5 Lesões

As larvas dos ascarídeos produzem uma gastroenterite eosinofílica quando apreendidas na submucosa do estômago ou do intestino. São as responsáveis pela formação de granulomas eosinofílicos nos linfonodos mesentéricos, rins e mais raramente, na retina e outros tecidos. No fígado, como consequência das migrações larvares surgem trilhos, granulomas e infiltrados inflamatórios portais que contêm eosinófilos em abundância, assim como fibrose focal. Nos pulmões as larvas provocam hemorragias focais, infiltração de eosinófilos e granulomas. Nos hospedeiros paraténicos, as larvas aparentam fazer percursos mais vagos, produzindo muitas vezes percursos migrantes larvares (necrose) no cérebro, granulomas oculares, larva migrante visceral e pneumonia intersticial aguda (McGavin *et al.*, 2001).

Os ascarídeos adultos aparentemente produzem doença clínica pela sua presença física e pela indução de uma má-absorção moderada. Na necropsia são facilmente observados na porção anterior do intestino delgado (Figura 15). Não produzem lesões muito grosseiras. Contudo, ocasionalmente pode ocorrer perfuração ou invaginação intestinais, podendo a presença de grandes massas de parasitas levar a uma oclusão do lúmen. Por vezes, os ascarídeos entram no ducto biliar ou no pâncreas, onde podem causar obstrução e inflamação. Microscopicamente, os parasitas adultos em fracas infecções presentes no lúmen do intestino não produzem lesões, nem aumentam o número de eosinófilos e leucócitos (McGavin *et al.*, 2001).

Figura 15: Adultos de *T. canis* no intestino delgado. Fonte: Overgaauw & van Knapen, 2008.



1.2.1.6 Diagnóstico

As infecções patentes provocadas por *T. canis* nos cães podem ser confirmadas pela presença do parasita nas fezes (Kassai, 1999) e/ou no vômito (Banos *et al.*, 1999) e através da observação microscópica em amostras fecais de ovos preto-acastanhados com invólucro espesso e escavado (Overgaauw & van Knapen, 2008). A observação dos ovos recorre a métodos de flutuação em amostras de fezes frescas (ICFSPH, 2005b). Os ovos não são embrionados, tem formato esférico, possuindo um diâmetro de 75µm por 90µm (Figura 16) (Hendrix, 1998).

Apenas os sintomas pulmonares que afectam toda a ninhada 1 – 2 semanas depois do nascimento fazem suspeitar de infecção. A necrópsia e a observação das lesões hepáticas,

pulmonares ou renais, juntamente com a demonstração directa dos nemátodos no intestino delgado, confirmam o diagnóstico (Banos *et al.*, 1999).

Figura 16: Ovo de *T. canis*. Ampliação 325x. Fonte: Original.



Infecções graves por *T. canis* em cachorros provocam uma diminuição do hematócrito, a qual é provocada por graves hemorragias internas. Estas hemorragias devem-se à passagem de larvas pré-adultas pelo fígado e a perfurações do intestino, quando perante números elevados de adultos (Schnieder *et al.*, 2010).

Também característica de infecções por *T. canis*, é a eosinofilia que começa pelo menos no dia 7 pós-infecção, sendo o seu máximo atingido aproximadamente aos 14 dias pós-infecção. Com o início da postura dos ovos nas fezes, o número de eosinófilos começa lentamente a decrescer, retornando aos valores fisiológicos cerca do dia 42 pós-infecção (Schnieder *et al.*, 2010).

Durante a migração no fígado, ocorre um aumento da alanina transaminase (ALT) e do glutamato desidrogenase, a qual atinge o máximo no dia 14 pós-infecção. A ALT mantém-se elevada por um certo período de tempo, enquanto o glutamato desidrogenase retoma os valores fisiológicos após 14 dias. Após uma reinfecção, as enzimas do fígado demonstram de novo um aumento apesar de nunca atingir os valores da infecção primária (Schnieder *et al.*, 2010).

1.2.1.7 Tratamento

Estão indicados os seguintes protocolos para o tratamento de infecções patentes por *T. canis* (Rochette, 2003):

- 200 mg por dia de mebendazol, por via oral, durante 2 dias.
- 20 mg/kg de flubendazol por via oral uma vez por dia durante dois dias consecutivos.
- 100 mg/kg febendazol por via oral ou 20 mg/kg por via oral durante 5 dias.
- 10 mg/kg de oxfendazol durante 3 dias.

- Uma dose única de 50 mg/kg de nitroscanato por via oral.
- Uma dose única de 5-10 mg/kg de levamisol por via sub-cutânea.
- Milbemicina, Selamectina e Febantel estão também indicados.

O único anti-helmíntico rotulado para o tratamento de cachorros com 2 semanas de idade é o pamoato de pirantel. A medicação deve ser iniciada rotineiramente o mais cedo possível no decorrer da segunda semana de vida e ser repetida de duas em duas semanas até o cachorro ter 3 meses de idade (Bowman, 2009). Um outro esquema diz que a primeira desparasitação nos cachorros deve ser efectuada com 10 dias de idade, seguindo-se uma segunda dose quando o cachorro tiver 6 semanas de idade e a partir de então, desparasitar de 3 em 3 semanas até o cachorro atingir os 3 meses de idade (Rochette, 2003). Cachorros jovens podem também ser regularmente tratados com combinações de piperazina (110 mg de piperazina base por kg de PV), o qual é considerado seguro e extremamente eficiente contra ascarídeos presentes no lúmen do tracto alimentar (Bowman, 2009).

Os antiparasitários são menos eficazes sobre as larvas somáticas hipóbioticas do que perante outros estádios de desenvolvimento. Está comprovado que a administração diária, por via oral, de 50 mg/kg de PV de febendazol no último terço da gestação e durante a primeira etapa de lactação, diminuiu consideravelmente a transmissão placentária e lactogénica de *T. canis* (Banos *et al.*, 1999).

1.2.1.8 Controlo

Uma redução do risco de infecção por *T. canis* no cão consegue-se com medidas de controlo eficazes, obtendo-se assim uma melhor prevenção da infecção no homem (Overgaauw & van Knapen, 2008). A redução da contaminação ambiental é fundamental para o controlo da toxocarose nos hospedeiros paraténicos e definitivos (Epe, 2006). Os ovos de *Toxocara* e *Toxascaris* são bastante resistentes a extremos ambientais e mantêm-se infecciosos durante anos, sobretudo em terra pouco drenada e em solos com sedimento, fazendo com que a sua acumulação no solo represente uma ameaça real (Bowman, 2009). Assim, a prevenção da contaminação inicial do ambiente é um pré-requisito fundamental que pode ser atingido através de medidas como (Epe, 2006):

- Limpar fezes presentes no solo e pavimentos.
- Prevenir o acesso de cães e gatos a lugares públicos, especialmente parques infantis.
- Desparasitação estratégica dos cães, com ênfase nos cachorros e cadelas gestantes
- Controlo de animais errantes.

Nos canis todas as superfícies deverão ser fisicamente limpas com mangueiras de alta-pressão. Construções à base de madeira e de arame são difíceis de ser limpas adequadamente, seja qual for o equipamento utilizado (Bowman, 2009). Os ovos de *Toxocara* são bastante resistentes aos desinfectantes químicos, podendo contudo ser mortos por iodo aquoso, luz ultravioleta (luz solar directa), altas temperaturas e secagem prolongada ([CFSPH], 2005b). Depois de as superfícies do canil estarem fisicamente limpas, elas podem ser esfregadas com hipoclorito de sódio a 1%, o qual não mata, os ovos mas facilita a sua posterior eliminação ao remover a camada proteica externa dos ovos que é extremamente adesiva (Bowman, 2009). Uma desvantagem do uso de hipoclorito de sódio é o facto de os ovos sem a cobertura externa tornarem-se mais infecciosos ([CFSPH], 2005b). A lavagem preliminar é fundamental, pois qualquer quantidade apreciável de matéria residual orgânica que subsista terá a capacidade para neutralizar o hipoclorito de sódio (Bowman, 2009).

É importante instituir a realização regular de exames fecais e tratamento anti-helmíntico, quer em cachorros quer em cães adultos. Em termos clínicos, a detecção através de flutuação fecal é simples, contudo a identificação correcta das espécies exige algum treino e experiência. O aumento da formação é necessário nos hospitais veterinários de modo a permitir que técnicos e veterinários identifiquem correctamente as infecções por ascarídeos (Lee, Shantz, Kazacos, Montgomery & Bowman, 2010)

Ratos e outros hospedeiros paraténicos de pequenas dimensões desempenham um papel significativo na epidemiologia da infecção dos membros do género *Toxocara* e *Toxascaris*. Os roedores são atraídos pela abundância de comida nos canis e não são afastados apenas pela presença de cães no local (Figura 17). Por conseguinte, um investimento no controlo de roedores poderá baixar o custo despendido no controlo de parasitas num canil (Bowman, 2009).

É crucial que a população em geral esteja informada sobre os riscos existentes associados ao contacto com *T. canis*, de modo a diminuir a exposição ao parasita, com consequente decréscimo da doença. É importante que os donos dos animais não se sintam inseguros, devendo ser informados sobre as fontes de transmissão, modos de infecção, manifestações da doença e medidas preventivas para a toxocarose (Lee *et al.*, 2010).

Figura 17: Rato morto por um cão de um dos canis do presente estudo. Fonte: Original.



1.2.1.9 Aspectos zoonóticos

A toxocarose é um problema de saúde pública, (Overgaauw & van Knapen, 2008) sendo entre as doenças transmitidas por animais ao homem, uma das infecções mais comuns no mundo, provocada pela forma larvar de *Toxocara* spp. Os sintomas dependem dos órgãos afectados e da magnitude da infecção. Geralmente não é uma doença fatal mas a larva poderá migrar para os olhos e provocar graves incapacidades na visão ou mesmo cegueira (Akao & Ohta, 2007).

A toxocarose humana classifica-se em larva migrante visceral (LMV), larva migrante ocular (LMO), toxocarose *covert* e toxocarose neurológica (TN) ou cerebral (Holland & Hamilton, 2006). As duas primeiras classificações podem igualmente ser referidas como toxocarose visceral e toxocarose ocular (Akao & Ohta, 2007). A TN é destas quatro a que se encontra menos estabelecida clinicamente e os seus efeitos no homem são consideravelmente menos conhecidos (Holland & Hamilton, 2006).

A fonte de contaminação mais reconhecida é sem dúvida a ingestão de solo contaminado, a qual ocorre mais frequentemente em crianças quando começam a andar. Além do mais, a toxocarose clínica em adultos tem sido documentada após a ingestão de hospedeiros paraténicos, no seu todo ou apenas porções, tais como fígado cru de animais domésticos (galinhas, patos, vacas e porcos) e minhocas. Vegetais não cozinhados também têm sido referidos como possível fonte de infecção, principalmente aqueles provenientes de quintas que utilizam excrementos de origem animal ou humana como fertilizante (Lee *et al.*, 2010).

Um outro modo de transmissão recentemente proposto é o contacto com ovos embrionados de *T. canis* presentes no pêlo dos cães (Lee *et al.*, 2010). O verdadeiro impacto deste modo de transmissão em termos de saúde pública continua por ser determinado (Schnieder *et al.*, 2010) e nesse sentido vários estudos têm sido realizados nos últimos anos para verificar

qual o seu verdadeiro risco potencial (Aydenizoz-Ozkayhan, Yagci & Erat, 2008; Keegan & Holland, 2010; Overgaauw *et al.*, 2009; Cunha Amaral *et al.*, 2010). Overgaauw *et al.* (2009) e Keegan e Holland (2010) são da opinião que este modo de transmissão representa um baixo risco de infecção para o homem, enquanto Cunha Amaral *et al.* (2010) e Aydeniz-Ozkayhan *et al.* (2008) têm opinião contrária.

O paciente típico com LMV é uma criança com a idade compreendida entre os 2 e os 7 anos, com história de geofagia e exposição a cachorros em casa. Os sinais clínicos de LMV estão geralmente associados com migração larvar pulmonar e hepática e incluem dor abdominal, diminuição do apetite, inquietação, febre, tosse, ruídos respiratórios, asma e hepatomegalia. A infecção é geralmente caracterizada por uma acentuada eosinofilia crónica, leucocitose e hipergamaglobulinemia (Magnaval & Glickman, 2006).

Já a LMO ocorre geralmente unilateralmente em crianças e adultos jovens. O sintoma mais comum é perda de visão durante um período de dias ou semanas. Em alguns indivíduos pode ocorrer perda de visão alternada com visão durante anos, muitas vezes relacionada com a migração de larvas na retina e à formação de granulomas. Muitas infecções oculares são subclínicas sendo apenas detectadas durante um exame de rotina ao olho (Magnaval & Glickman, 2006). Pode surgir associado a retinite granulomatosa e a endoftalmia de difícil diagnóstico, muitas vezes confundido com retinoblastoma (Banos *et al.*, 1999).

O diagnóstico directo da toxocarose não é simples pois os pacientes não excretam material do parasita, tal como ovos ou larvas. Técnicas de serodiagnóstico (ELISA - *Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) são as ferramentas que inspiram maior confiança para a detecção de anticorpos e antígenos circulantes (Overgaauw & Knapen, 2008). A toxocarose é uma das poucas doenças humanas parasitárias na qual o serodiagnóstico recorre à utilização de antígenos padrão, mais concretamente antígenos de excreção-secreção (TES) (Smith *et al.*, 2009). Estes tratam-se de glicoproteínas com pesos moleculares diversos, que actuam como antígenos identificados pelo hospedeiro (Banos *et al.*, 1999). O TES-ELISA indirecto para a detecção de anticorpos é actualmente o método de diagnóstico mais comum e a sua especificidade tem aumentado em relação a testes anteriormente utilizados. No entanto a sua utilização continua a ser problemática em áreas endémicas para vários parasitas, devido à reacção cruzada antigénica que ocorre, reduzindo assim o seu valor de diagnóstico (Smith *et al.*, 2009).

Os veterinários encontram-se na linha da frente na prevenção da transmissão da infecção por *Toxocara* no homem. O veterinário está geralmente consciente das características dos animais pertencentes aos seus clientes e é tido em conta, por esses mesmos clientes, como a melhor fonte de informação sobre questões relacionadas com os animais que têm em casa. Uma boa prática veterinária inclui aconselhamento sobre os riscos das doenças com potencial zoonótico inerente à posse de animais de estimação e como as evitar. Os médicos também estão visados sobre o facto dos animais de estimação poderem actuar como fontes

de infecção, contudo na maior parte dos casos a informação relativa aos animais que os seus pacientes possuem só chega depois da transmissão da doença ter ocorrido e nessa altura já é obviamente tarde para implementar as correctas medidas preventivas (Shantz, 2006).

1.2.2 Toxascariose canina

T. leonina é um parasita de cães e gatos que ocorre nos climas mais frios do mundo. As fêmeas adultas podem atingir os 10 cm de comprimento. Os ovos de *T. leonina* desenvolvem-se rapidamente, atingindo o estágio infeccioso em aproximadamente uma semana. Cães e gatos infectam-se por *T. leonina* através da ingestão de ovos infectantes ou de roedores com larvas infectantes enquistadas nos seus tecidos. Se os ovos forem ingeridos por um roedor ou um outro animal que não o hospedeiro final, a larva eclode e invade a parede do intestino. Aqui mantém-se durante aproximadamente uma semana antes se migrar para outros tecido, onde enquista e permanece presa na fase infectante. Quando o ovo infectante ou um roedor é ingerido por um cão, gato ou um outro hospedeiro definitivo apropriado, a larva invade a mucosa do intestino delgado (Bowman, 2009). Neste local, muda para L3 cerca de 11 dias pós-infecção. As larvas atingem o estágio L4 cerca de 3 a 5 semanas depois da infecção, tendo então nesta altura cerca de 8 mm, situando-se no lúmen intestinal e na mucosa. Seis semanas depois da infecção as larvas mudam para o estágio final (L5). Os primeiros parasitas adultos surgem no intestino entre os dias 74-88 pós-infecção. Fica então visto, que as fases larvares de *T. leonina* não passam por migrações larvares, via fígado e pulmões, tendo apenas uma fase histotrófica muito curta (Rochette, 2003).

As infecções placentares e lactogénicas, não se verificam na toxascariose (Rochette, 2003). Não se verificam muitos casos clínicos provocados por este parasita, o que indica um menor poder patogénico (Banos *et al.*, 1999). Os sintomas provocados por este parasita são os mesmos que os de infecções por *T. canis*. O diagnóstico pode ser efectuado através de um exame coprológico que confirme a presença de ovos típicos nas fezes, os quais possuem tamanho regular, com uma cobertura grossa, lisa e incolor e um invólucro granulado que não ocupa totalmente o interior do ovo, não-segmentado e de coloração amarelo-acastanhada (Figura 18) (Rochette, 2003). As dimensões dos ovos são de 75 µm x 85 µm (Thienpont *et al.*, 1986).

Figura 18: Ovos de *T. leonina* (cima) e de *T. canis* (baixo). Ampliação: 150x. Fonte: Original.



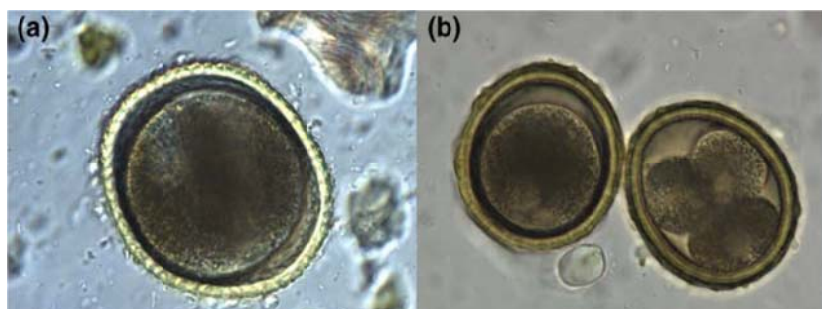
1.2.3 Baliscariose canina

O *B. procyonis* é endêmico em algumas populações de guaxinis dos EUA, tendo a capacidade para infectar uma extensa variedade de hospedeiros paraténicos, entre os quais os cães, coelhos, aves e o homem. O cão pode actuar também como hospedeiro definitivo (Watts, Liang & Schantz, 2006). No homem, a infecção por este parasita acarreta uma maior probabilidade de migrações das larvas pelo SNC, quando comparado com as migrações efectuadas pelas larvas de *T. canis*, sendo que na maioria dos casos conhecidos de infecção na nossa espécie, a gravidade da doença neurológica tem resultado em morte ou em sequelas neurológicas duradouras (Lee *et al.*, 2010). Outra diferença a registar comparativamente com as larvas de *T. canis*, reside no facto de as larvas de *B. procyonis* aumentarem de tamanho durante o período que passam no organismo do homem (Watts *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2010), podendo atingir dimensões compreendidas entre 1 e 2 mm de comprimento (Lee *et al.*, 2010). Como tal, nos últimos anos, o aparecimento de dezenas de infecções patentes no cão por *B. procyonis* (Lee *et al.*, 2010; Watts *et al.*, 2006), tem sido motivo de preocupação crescente nos EUA (Watts *et al.*, 2006). Casos humanos continuam a ocorrer e é imperativo que os veterinários estejam conscientes do risco provocado pela presença de guaxinis mantidos em cativeiro ou presentes numa comunidade (Bowman, 2009).

Os ovos do *B. procyonis* são muito semelhantes aos de *T. canis* (Lee *et al.*, 2010), contudo podem-se diferenciar através do tamanho, visto que são ligeiramente mais pequenos, têm

um revestimento externo rugoso e surgem mais acastanhados (Figura 19). Os cães infectados surgem geralmente sem qualquer sinal clínico (Bowman, 2009).

Figura 19: (a) Ovo de *T. canis*. (b) Ovo de *B. procyonis*. Ampliação: 300x. Adaptado: Lee *et al.*, 2010.



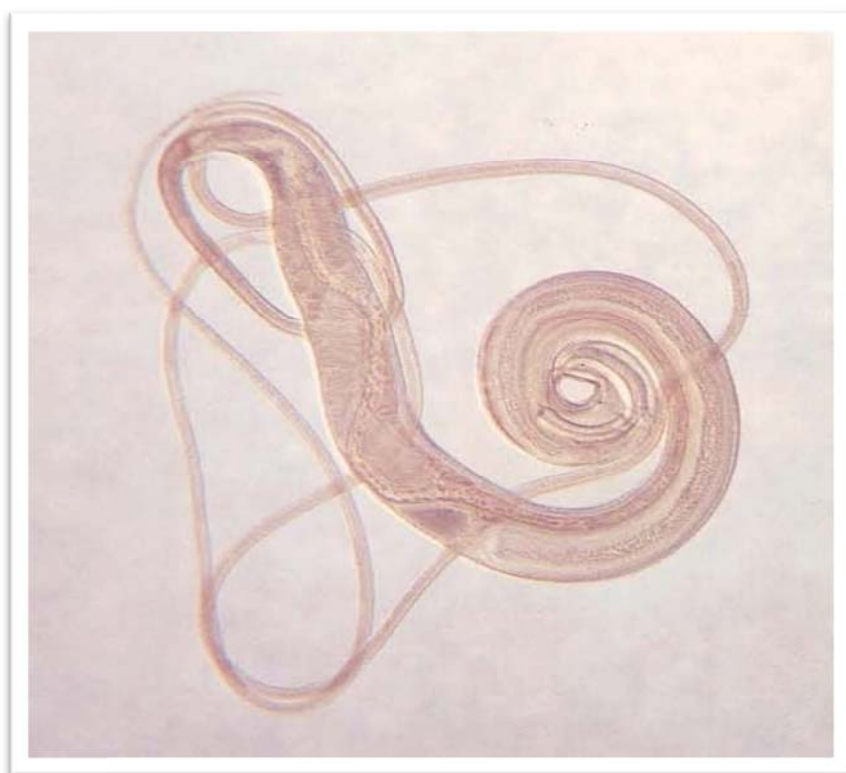
1.3 Tricuriose

Trichuris vulpis (*T. vulpis*), descrito pela primeira vez por Froelich (1789), localiza-se no ceco e menos frequentemente no cólon do cão e canídeos silvestres de todas as idades. A sua distribuição é mundial e a infecção é frequente, contudo pode passar despercebida clinicamente. Representa um problema principalmente em criadores com más condições higiénicas ou em animais errantes, mais do que nos cães de companhia (Banos *et al.*, 1999). Os seus ovos são do tipo tricuróide ou triquinelóide (Hendrix, 1998). O homem é ocasionalmente infectado (Ettinger & Feldman, 2010).

1.3.1 Etiologia

O género *Trichuris* é o mais importante da família Trichuridae, subfamília Trichurinae (Banos *et al.*, 1999). Os adultos têm 4-6 cm de comprimento, com uma extremidade posterior espessa afilando-se rapidamente numa longa extremidade anterior filamentosa (Figura 20), que fica caracteristicamente inserida na mucosa (Urquhart *et al.*, 1996). Os machos possuem uma cauda ondeada com uma espícula (9-11 mm), que está alojada numa bolsa grossa e espinhosa (Rochette, 2003); a cauda da fêmea é simplesmente curva. Os ovos característicos têm o formato de limão, com um opérculo conspícuo em ambas as extremidades; nas fezes, os ovos tem coloração amarela ou castanha (Urquhart *et al.*, 1996).

Figura 20: Adulto de *T. vulpis*. Fonte: Rochette, 2003.

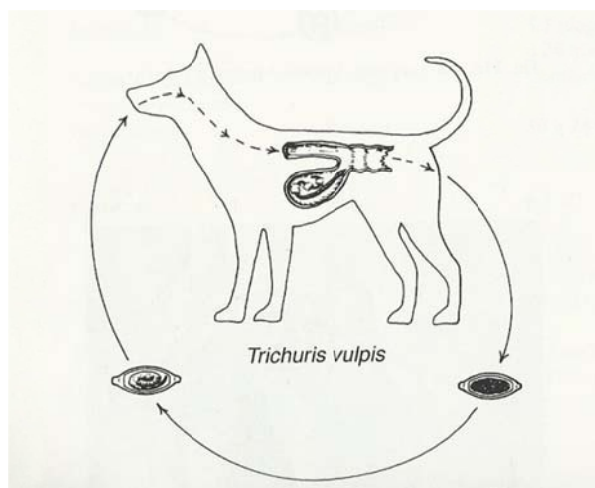


1.3.2 Ciclo Biológico e Epidemiologia

Os membros desta espécie têm um ciclo de vida directo e maturam num único hospedeiro (|CFSPH|, 2005c). Os ovos atingem a fase infecciosa em 25-26 dias a uma temperatura de 19-25° C ou 9-10 dias a 33-38°C (Anderson, 2000). Os ovos infecciosos podem facilmente permanecer viáveis durante mais de 5 anos e tolerar o frio e a geada, até temperaturas de -20°C. Pequenos hospedeiros de transporte, como os ratos, desempenham um importante papel na disseminação dos ovos de *Trichuris* (Rochette, 2003).

A forma infecciosa L1 desenvolve-se no interior do ovo, mas não eclode a não ser que o mesmo seja ingerido por um hospedeiro apropriado. Como referido anteriormente, o ovo infeccioso é muito resistente, o que faz com que animais confinados em ambientes contaminados estejam sujeitos a uma grande pressão de infecção. Após a ingestão dos ovos, todo o desenvolvimento ocorre no epitélio do intestino, visto que não se verifica migração extra-intestinal nesta espécie. O ppp é de aproximadamente 3 meses (Figura 21) (Bowman, 2009).

Figura 21: Ciclo de vida de *T. vulpis*. Fonte: Foreyt, 2001.



Após a ingestão dos ovos infecciosos, as larvas eclodem, penetrando na parte superior do intestino delgado onde terão acesso às glândulas intestinais, permanecendo neste local durante 2-14 dias antes de migrarem para o ceco, onde sofrem 4 mudas até atingirem o estado de adultos. Esta fase histotrófica das larvas passada nas glândulas intestinais não está totalmente esclarecida (Rochette, 2003; [CFSPH], 2005c).

Segundo Banos *et al.* (1999) e Anderson (2000), a longevidade dos adultos no intestino não ultrapassa os 5 meses de vida, enquanto outros autores referem uma longevidade de 16 meses (Rochette, 2003; [CFSPH], 2005c).

1.3.3 Patogenia e Sintomatologia

Após atingirem o estado adulto, os tricurídeos introduzem o seu extremo anterior na mucosa do intestino grosso, por baixo do epitélio, formando um túnel, enquanto a extremidade posterior fica livre. Através do estilete que possuem na boca, perfuram a mucosa e os vasos sanguíneos para se alimentarem. Apesar de não terem a voracidade sanguínea de *A. caninum*, os tricurídeos podem provocar inflamação aguda e crônica do ceco. Este órgão surge espessado, com hemorragias punctiformes e bastante muco (Rochette, 2003).

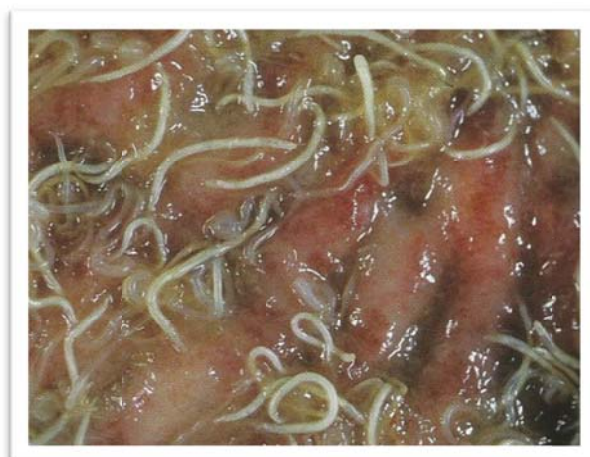
A maior parte das vezes, as infecções por *T. vulpis* são assintomáticas (Rochette, 2003; [CFSPH], 2005c; Bowman, 2009), contudo infecções graves podem provocar diarreia mucóide ou hemorrágica, assim como perda de peso, mau desenvolvimento e anemia ([CFSPH], 2005c).

Uma infecção por *T. vulpis* pode tornar o seu hospedeiro mais susceptível a infecções secundárias intestinais, tais como as provocadas por *Giardia spp* e *Balantidium coli* (Rochette, 2003).

1.3.4 Lesões

A superfície total do ceco pode estar coberta por adultos de *T. vulpis* (Figura 22), podendo estes estender-se até à superfície do cólon proximal ou mesmo até ao recto, em casos em que se observem infestações maciças. Microscopicamente observam-se túneis de parede fina a cobrir o esfago dos tricurídeos. Lesões nos tecidos são pouco evidentes. O parasita induz uma pequena infiltração leucocitária, sem sinais de necrose. Em infecções graves, alguns parasitas migram para camadas mais profundas do intestino, provocando uma inflamação granulomatosa (McGavin *et al.*, 2001).

Figura 22: Adultos de *T. vulpis* no ceco. Fonte: Bowman, 2009.



1.3.5 Diagnóstico

A tricurirose é diagnosticada através da detecção de ovos de *Trichuris* nas fezes, geralmente por flutuação fecal ([CFSPH], 2005c). Os ovos apresentam uma casca espessa simétrica de coloração amarelo-acastanhada, com opérculos polares em ambas as extremidades (Figura 23). Aquando da postura, os ovos não se encontram embrionados. As dimensões oscilam entre 70µm a 89µm por 37µm a 40µm (Hendrix, 1998). Os ovos são expulsos pelas fezes de uma forma bastante irregular (Rochette, 2003).

Figura 23: Ovos de *T. vulpis*. Ampliação: 280x. Fonte: Original.



1.3.6 Tratamento

Tomando-se medidas sanitárias e desparasitar sistematicamente todos os cães a cada dois ou três meses é possível eliminar a carga parasitária dos cães. Os anti-helmínticos indicados são (Rochette, 2003):

- Dose-padrão de 200mg de mebendazol por via oral, durante 5 dias.
- 20 mg/kg de flubendazol por via oral, uma vez por dia, durante 3 dias consecutivos.
- 50 mg/kg de febendazol durante 3 dias ou 20 mg/kg durante 5 dias.
- Um único tratamento oral com milbemicina 0,4-0,9 mg/kg.
- A selamectina, ivermectina e oxantel estão também indicados.

1.3.7 Controlo e Profilaxia

As infecções são difíceis de prevenir em áreas contaminadas com ovos de *Trichuris*. Um bom saneamento e a eliminação de áreas húmidas podem diminuir a contaminação ambiental, uma vez que os ovos de *Trichuris* sobrevivem melhor em locais húmidos e sombrios ([CFSPH], 2005c).

Evitar que os cães entrem em contacto com os ovos infecciosos é um ponto fundamental de um bom programa de controlo. Contudo, convém não esquecer que assumindo que as formas parasitárias larvares são mais resistentes que os adultos à acção dos anti-helmínticos e as larvas de *T. vulpis* levarem aproximadamente 3 meses a maturar (ao contrário da maioria dos nemátodos intestinais do cão, que não levam mais que 2-3 semanas), para uma eliminação totalmente eficaz de uma infecção patente, é necessário que após o tratamento inicial, a terapêutica seja repetida rotineiramente três vezes num intervalo mensal, permitindo assim que as larvas que não foram afectadas pelo tratamento o sejam numa fase mais tardia, quando já tenham atingido o estado adulto, evitando assim a possibilidade de nova infecção com consequente contaminação do ambiente com ovos (Bowman, 2009).

A manutenção de medidas higiénicas nos canis e zonas de passeio, com terrenos que permitam a limpeza e desinfecção correcta, contribui para um melhor controlo (Banos *et al.*, 1999). Assim, devem-se utilizar pisos de cimento, gravilha ou areia em detrimento de terra. Pisos de cimento devem ser lavados e desinfectados diariamente ([CFSPH], 2005c).

As fezes devem ser removidas o maior número de vezes possível. Se os cães têm acesso a locais com relva, esta deverá ser mantida curta, de modo a reduzir a sombra no solo e não deverá ser regada em excesso ([CFSPH], 2005c). As análises coprológicas para descobrir os portadores e tratá-los convenientemente completam a profilaxia (Banos *et al.*, 1999).

1.3.8 Aspectos zoonóticos

O homem é infectado por *T. vulpis* através da ingestão de terra ou água contaminadas, estando o maior ou menor impacto desta zoonose dependente do tratamento e prevenção da infecção nos animais, da remoção de fezes antes que os ovos se tornem infecciosos de uma boa higiene e de uma educação do público ([CFSPH], 2005c).

2. Céstodos

Os céstodos que parasitam os animais domésticos pertencem à classe Cestoda do Filo Platyhelminthes. São semelhantes aos tremátodos no que se refere ao seu corpo parenquimatoso sem celoma e ao facto de serem hermafroditas. Entre as 14 ordens que existem dentro da classe Cestoda, as duas ordens que apresentam interesse veterinário são a Pseudophyllidea e a Cyclophyllidea. A ordem Pseudophyllidea, de interesse veterinário possui os géneros *Diphyllobthrium* e *Spirometra*, ambas com dois hospedeiros intermediários no seu ciclo de vida e associadas com cadeias alimentares aquáticas. Já a ordem Cyclophyllidea contém 5 famílias de importância veterinária, nomeadamente, Taeniidae, Mesocestoididae, Anoplocephalidae, Dipylidiidae e Hymenolepididae. Todas requerem um hospedeiro intermediário (mamífero ou artrópode, dependendo da família), com excepção da família Mesocestoididae, a qual necessita de dois hospedeiros intermediários, apesar de o seu ciclo de vida ainda não estar completamente elucidado. Os Cyclophyllidea estão associados com cadeias alimentares terrestres (Bowman, 2009).

Os cães na quase totalidade das vezes actuam como hospedeiros definitivos dos Cyclophyllidea mas ocasionalmente poderão ser infectados como hospedeiros intermediários, transportando o estágio imaturo larvar em vários tecidos do corpo (Conboy, 2009). Os Cyclophyllidea não podem completar o seu ciclo biológico sem um hospedeiro intermediário (Rochette, 2003).

Um céstodo adulto é essencialmente uma cadeia (estróbilo) constituída por unidades independentes que vão adquirindo progressivamente maturidade reprodutiva. A extremidade anterior possui um escólex que adere fortemente à parede intestinal do hospedeiro. Num céstodo adulto completamente desenvolvido, todos os estádios de desenvolvimento estão

dispostos numa matriz linear, iniciando-se no escólex e finalizando na extremidade mais distal (Bowman, 2009).

O ovo dos céstodos possui uma oncosfera com o seu embrião hexacanto (com 6 ganchos) que quando ingerido por um hospedeiro intermediário susceptível, desenvolve-se até à etapa larvar, o metacéstodo. Este, dependendo da espécie em questão, pode ser um cisticerco, um estrobilocerco, um cenuro ou um quisto hidático (Anexo 3) (Rochette, 2003).

De um modo geral, os céstodos adultos são pouco patogénicos para os cães. A consequência mais importante destas infecções é a excreção de ovos ou segmentos grávidos (proglotes) que, são no mínimo esteticamente repugnantes e pouco aceitáveis para os donos. No entanto, na pior das hipóteses podem representar uma ameaça não só económica (decréscimo na produção dos produtos de origem animal e rejeição das vísceras ou carnes parasitadas pelos metacéstodos), mas também zoonótica (Acedo, Quilez & Cacho, 1999; Conboy, 2009).

2.1 Ordem Cyclophyllidea

Os membros desta ordem têm um escólex com ventosas musculares e com a presença ou ausência de um *rostellum* armado. Os ovos são eliminados pelo hospedeiro definitivo contidos em proglotes grávidos que se destacam do estróbilo (Conboy, 2009).

2.1.1 Família Taeniidae

Na família Taeniidae estão incluídos os géneros *Taenia* e *Echinococcus* (Anexo 3) (Acedo *et al.*, 1999). Os ovos tipo da família Taeniidae são redondos, com uma cobertura espessa e suave. Tem cerca de 30-40 µm, contendo o embrião hexacanto no seu interior quando passados nas fezes (Figura 24) (Kassai, 1999).

Figura 24: Ovo de família Taeniidae. Ampliação 570x. Fonte: Foreyt, 2001.



2.1.1.1 *Taenia* spp

As principais espécies do género *Taenia* (*T.*) que infectam o cão são *T. pisiformis*, *T. hydatigena*, *T. multiceps*, *T. ovis* e *T. serialis*. O seu comprimento varia entre dezenas a

centenas de centímetros, dependendo da espécie em questão e do grau de maturidade do espécime. O escólex apresenta quatro ventosas musculares e um *rostellum* não-retráctil armado com uma fileira dupla de ganchos. Os segmentos apresentam um formato mais ou menos rectangular, com um poro genital unilateral que alterna entre um lado e o outro ao longo do estróbilo (Bowman, 2009).

Os cães adquirem a infecção através da ingestão de cisticercos presentes nas vísceras de coelhos (*T. pisiformis*), roedores (*T. pisiformis*), ruminantes domésticos, ruminantes selvagens, cavalos e porcos (*T. hydatigena*) ou na musculatura das ovelhas (*T. ovis*). A infecção em cães também ocorre pela ingestão de cenuros no cérebro ou na medula espinal das ovelhas (*T. multiceps*) ou no tecido intramuscular ou subcutâneo dos coelhos e roedores (*T. serialis*). Caçar e liberdade para vaguear são factores de risco para adquirir infecção com *T. pisiformis*, *T. hydatigena* e *T. serialis*. A proximidade de uma quinta com ruminantes, principalmente ovelhas, é um factor de risco para a infecção por *T. hydatigena*, *T. multiceps* e *T. ovis* (Conboy, 2009).

Os animais infectados eliminam os segmentos grávidos nas fezes ou os segmentos móveis saem pelo ânus por si só. O ppp varia consoante a espécie em questão (Anexo 3). A passagem dos proglotes para o exterior ocorre durante meses ou anos, de um modo irregular (Conboy, 2009).

Os ovos tornam-se infecciosos de imediato e mantêm-se viáveis até um ano a temperaturas baixas e humidade elevada ou menos de uma semana a temperaturas elevadas e humidade baixa (Conboy, 2009).

Geralmente, os únicos sinais clínicos associados à presença de formas adultas no cão são o prurido e a irritação anal. Contudo, estão descritos casos de infecções por metacéstodos em cães, que podem apresentar sintomatologia mais grave (Conboy, 2009).

O diagnóstico depende da demonstração de segmentos ou de ovos (Figura 24) de *Taenia* nas fezes. A identificação específica do parasita adulto é possível apenas com recurso a um especialista na área (Urquhart, 1996).

O tratamento de *T. hydatigena*, *T. pisiformis* e *T. ovis* pode ser efectuado com extrema eficácia com recurso ao praziquantel, na dose de 5 mg/kg, por via oral ou subcutânea. *T. pisiformis* pode ser também tratada com epsiprantel, 5,5 mg/kg, por via oral ou com febendazol, 50 mg/kg por via oral, uma vez por dia durante três dias (Conboy, 2009).

2.1.1.2 *Echinococcus* spp

O género *Echinococcus* (*E.*) possui duas espécies com importância em medicina veterinária, *E. granulosus* e *E. multilocularis*, os quais apresentam formas adultas muito pequenas (2 a 8 milímetros de comprimento), com apenas quatro ou cinco segmentos, sendo que apenas o último segmento se encontra grávido (Bowman, 2009).

Na espécie *E. granulosus* estão distribuídos entre 45-60 testículos aproximadamente e o poro genital está localizado na zona posterior ou mediana do segmento. Na espécie *E. multilocularis* encontram-se 17 a 26 testículos localizados posteriormente ao poro genital, o qual está colocado numa zona anterior ao meio do segmento (Bowman, 2009).

A hidatidose humana pode ser adquirida pela ingestão de ovos provenientes de *Echinococcus* spp. Para evitar a infecção deve-se utilizar luvas e lavar as mãos muito cuidadosamente aquando da manipulação de fezes de carnívoros potencialmente contaminados (Bowman, 2009).

E. granulosus ocorre no intestino delgado do cão doméstico e de vários canídeos selvagens. Os cães adquirem a infecção através da ingestão de quistos hidáticos uniloculares presentes nos órgãos de ovelhas infectadas. O ppp é de 34 a 53 dias e os segmentos são libertados durante 5 a 29 meses num padrão irregular. Os segmentos grávidos têm entre 1-2 mm de comprimento e possuem cerca de 600 ovos (Conboy, 2009). O homem pode actuar como hospedeiro intermediário accidental, no qual os quistos se vão desenvolvendo muito lentamente, desde 60-70 µm ao sétimo dia pós-infecção até 1-3 mm ao fim de 8 semanas, 4-5 mm aos 3 meses, 15-20 mm aos 5 meses e 10-20 cm depois de 10-20 anos (Rochette, 2003). Os órgãos mais afectados são geralmente o fígado e os pulmões (Conboy, 2009). Já foram observados quistos do tamanho de uma cabeça de criança. O efeito patológico deve-se principalmente à pressão exercida contra os tecidos circundantes (Rochette, 2003).

E. multilocularis é um parasita do intestino delgado dos cães, gatos, raposas e coiotes, cujo tamanho varia entre 1,2 a 4,5 mm de comprimento e consiste em 4 ou 5 segmentos. Os cães infectam-se quando caçam diversos tipos de roedores infectados com quistos hidáticos alveolares (Conboy, 2009). Estes quistos, que se desenvolvem principalmente no fígado dos hospedeiros intermediários, caracterizam-se por um crescimento exógeno e uma continua proliferação e infiltração nos tecidos envolventes (Bowman, 2009). O ppp é de cerca de 26-29 dias e os segmentos grávidos contêm cerca de 300 ovos e são passados de um modo irregular durante um período de 1-4 meses (Conboy, 2009). As pessoas infectam-se ao ingerir os ovos de *E. multilocularis* (Bowman, 2009). Ocorre depois a formação de um quisto alveolar que infiltra no tecido vizinho da mesma forma que um tumor maligno. Estes quistos (multiloculares) desenvolvem-se de um modo muito mais rápido que os uniloculares, encontrando-se principalmente no fígado mas também nos pulmões e cérebro. A equinococose alveolar apresenta uma mortalidade muito elevada, com valores na ordem dos 50 a 70% (Rochette, 2003).

O diagnóstico *ante-mortem* de equinococose em cães é difícil (Conboy, 2009). Visto que os ovos de *Taenia* spp e *Echinococcus* spp são indistinguíveis ao microscópio óptico (Figura 24), o diagnóstico específico só pode ser feito mediante a identificação dos adultos. Para tal, pode-se administrar bromidrato de arecolina aos animais, que vai actuar como purgante,

facilitando assim a libertação dos parasitas do intestino. No entanto, 20% dos cães não reagem ao efeito do purgante (Acedo *et al.*, 1999).

A detecção de coproantígenos através do método de ELISA, o qual recorre a anticorpos policlonais que reagem com antígenos somáticos ou excretorios/secretorios, é uma alternativa fiável e mais sensível que o recurso ao bromidrato de arecolina para o diagnóstico de equinococose canina (Acedo *et al.*, 1999).

Para o tratamento da equinococose canina está aprovado a utilização do praziquantel, 5 mg/kg, por via oral ou subcutânea. O epsiprantel é eficaz apenas contra *E. multilocularis*, na dose de 7,5 mg/kg, por via oral. O tratamento provoca uma libertação de grandes quantidades de ovos viáveis e como tal, nas 72h após o tratamento, as fezes do animal deverão ser manuseadas com extrema precaução (Conboy, 2009).

Medidas de controlo fundamentam-se na prevenção do acesso dos cães aos hospedeiros intermediários (Conboy, 2009).

2.1.2 Familia Dipylidiidae

2.1.2.1 *Dipylidium caninum*

O risco de exposição para a infecção por *Dipylidium caninum* (*D. caninum*) nos cães ocorre em qualquer lugar que tenha a presença de pulgas (*Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis*, *Pulex irritans*) ou piolhos mastigadores (*Trichodectes canis*), visto serem estes os hospedeiros intermediários para a dipilidiose canina (Conboy, 2009).

D. caninum raramente supera os 50-70 cm de comprimento. Possui uma coloração clara amarelo-avermelhada. O escólex tem quatro ventosas musculares colocadas radialmente e um rostelo armado com uma coroa retráctil de ganchos. O rostelo consiste em três ou quatro filas de ganchos que se assemelham a espinhos de rosa. Os segmentos apresentam um aspecto de sementes de pepino e possuem os órgãos sexuais de macho e fêmea separados. Os segmentos grávidos são muito delicados e facilmente se desintegram em cápsulas ovíferas que contêm entre 1 e 30 ovos (Figura 25) (Rochette, 2003).

Os animais adquirem a infecção através da ingestão do metacéstodo cisticercoide, presente nas pulgas e piolhos. As pulgas na sua forma larvar e piolhos infectam-se quando se alimentam dos segmentos eliminados pelos cães. Os cães passam os segmentos nas fezes até no mínimo 17 dias pós-ingestão das pulgas infectadas (Conboy, 2009).

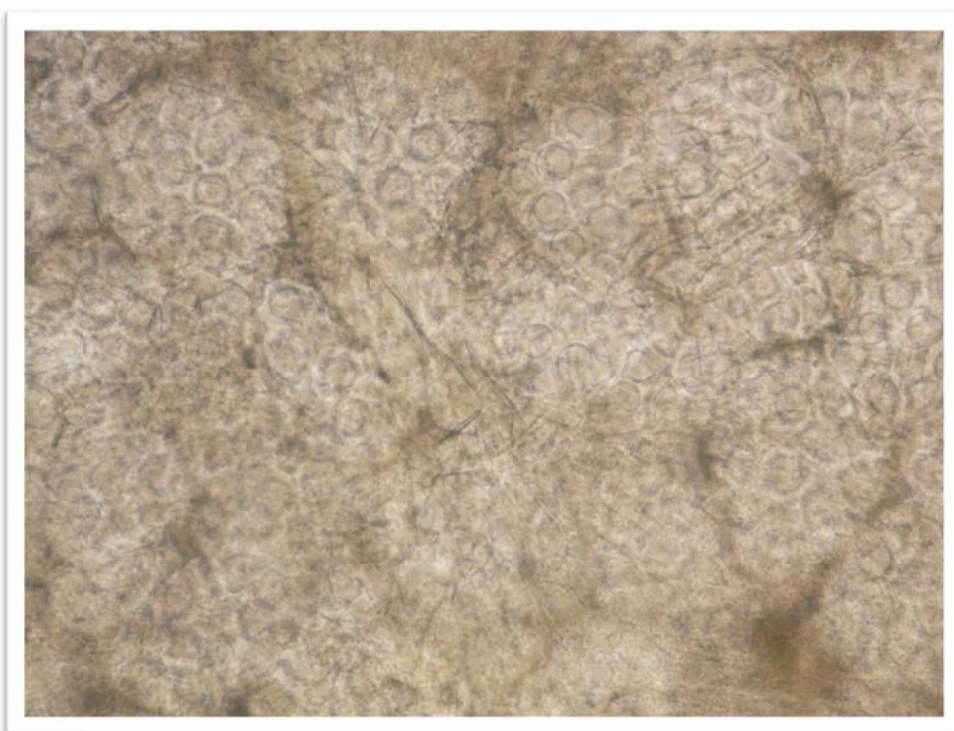
A forma adulta de *D. caninum* não é patogénica e podem ser tolerados várias centenas de espécimes sem qualquer efeito clínico. Os segmentos ao passarem activamente pelo ânus, podem causar algum desconforto e um sinal útil de infecção é o acto de esfregar excessivamente o períneo (Urquhart, 1996), adoptando uma posição descrita como “andar de trenó”. Parece que uma dieta rica em leite favorece o desenvolvimento de *D. caninum*. Para o diagnóstico, é importante verificar a presença de pulgas ou piolhos e se existem proglotes à volta do ânus, no pêlo, no cesto do cão ou nas fezes (Rochette, 2003).

Na dipilidiose raramente são eliminados ovos livres nas fezes, o que resulta na pouca sensibilidade das técnicas coprológicas de flutuação com exame microscópico (Acedo *et al.*, 1999).

Os proglotes grávidos de *D. caninum* são especialmente activos e podem ser observados arrastando-se nas fezes ou no pêlo dos animais. A sua visualização permite observar uma morfologia oval semelhante a sementes de pepino, com poros genitais bilaterais e a rotura da sua parede permite a libertação das cápsulas ovíferas características, as quais contêm ovos no seu interior. No meio ambiente têm tendência para desidratar, ficando com a aparência de grãos de arroz (Acedo *et al.*, 1999). O tratamento dos cães infectados é efectuado com praziquantel, 5mg/kg, por via oral ou subcutânea ou com epsiprantel, 5,5 mg/kg. É necessário fazer um controlo das pulgas e piolhos, de outro modo, o mais certo é ocorrer nova infecção (Conboy, 2009).

A infecção no homem pode ocorrer, sobretudo em crianças pequenas, após ingerirem pulgas infectadas, sendo os sinais clínicos mínimos (Conboy, 2009; Bowman, 2009).

Figura 25: Cápsulas ovíferas presentes em proglote de *D. caninum*. Ampliação:200x. Fonte: Original.



3. Protozoários

3.1 Coccídias

3.1.1 *Cystoisospora* spp

A coccidiose mais comum dos caninos era habitualmente colocada num género designado por *Isospora*. Contudo, recentemente ocorreu uma revisão taxonómica, alterando essa designação para *Cystoisospora* (Bowman, 2009).

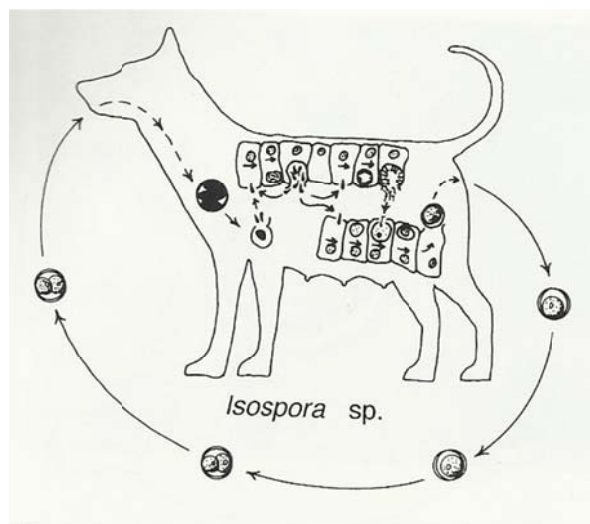
Além de *Cystoisospora*, os outros géneros de coccidioses que infectam o cão são *Hammondia*, *Sarcocystis*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Cryptosporidium*. Destes, o género *Cystoisospora* é o único capaz de provocar uma enterite primária no cão (Corrales, 1999). Este género não apresenta nenhum tipo de risco zoonótico para o homem (Lappin, 2010).

A fase sexual da reprodução ocorre no tracto GI dos cães e culmina na passagem de oocistos não esporulados nas fezes. Os cães são os hospedeiros definitivos para *Cystoisospora canis* (*C. canis*), *Cystoisospora ohioensis*, *Cystoisospora neorivolta* e *Cystoisospora burrowsi*. Os oocistos variam no aspecto microscópico, o qual pode ser utilizado para determinar qual a espécie que está a causar a infecção em causa (Lappin, 2010).

3.1.1.1 Ciclo Biológico

A infecção por *C. canis* tem início quando os oocistos esporulados são ingeridos pelo cão no ambiente (Figura 26), pela ingestão de hospedeiros paraténicos (Lappin, 2010; Rochette, 2003) ou intermediários (Lappin, 2010).

Figura 26: Ciclo de vida do *Cystoisospora* spp a partir da ingestão de oocistos esporulados presentes no ambiente. Fonte: Foreyt, 2001.



Os oocistos esporulados contêm dois esporocistos e cada um destes contêm quatro esporozoítos. Os esporozoítos são activados pela acção da bÍlis e da temperatura intestinal, permitindo a sua libertação e penetração na parede do intestino delgado. As fases

endógenas ocorrem no interior do epitélio da porção distal das vilosidades do intestino delgado. São produzidas três gerações assexuadas durante a esquizogonia. A primeira geração de esquizontes (16-38 x 11-23 µm) contém 4 a 24 merozoítos. Os da segunda geração são mais pequenos (12-18 x 8-13 µm) e contêm não mais de 12 merozoítos. São produzidos no sexto e sétimo dia pós-infecção. A terceira geração de esquizontes (13-38 x 8-24 µm) contém entre 6 a 72 merozoítos, que são produzidos entre o sexto e o oitavo dia pós-infecção. Durante a gametogonia, que ocorre entre o sétimo dia e o décimo dia, formam-se os macrogâmetas e microgâmetas. Os oocistos maduros podem ser detectados em secções de tecido desde o oitavo até ao décimo segundo dia (Rochette, 2003).

O ppp varia entre os 9 e 11 dias, dependente da espécie de oocisto e do seu estado de desenvolvimento. Os oocistos presentes nas fezes frescas não são infecciosos e uma vez no meio ambiente e com temperaturas favoráveis de 20 a 30°C, podem esporular em 2 ou 3 dias, sendo que só então se tornam infecciosos para o hospedeiro final (Rochette, 2003). Adicionalmente ao típico desenvolvimento que ocorre no intestino delgado do hospedeiro definitivo, um hospedeiro intermediário poderá ser facultativamente envolvido. Roedores ou herbívoros são infectados pela ingestão de oocistos esporulados. Os esporozoítos entram em variadas células deste hospedeiro, mantendo-se contudo inalteradas no interior de um vacúolo parasitóforo (Melhorn, 2001), em tecidos extra-intestinais, sobre a forma de um quisto monozóico. Se um cão ingerir estes tecidos parasitados, o ciclo de vida prossegue, tal e qual como se fosse a partir da ingestão de oocistos esporulados nas fezes (Dubey, Lindsay & Lappin, 2009). O ppp é contudo mais curto (Rochette, 2003). Como não ocorre desenvolvimento do parasita no interior do hospedeiro intermediário, este deverá ser referido como hospedeiro paraténico (Melhorn, 2001). Actualmente não se sabe o verdadeiro significado da existência de um hospedeiro paraténico no ciclo de vida de *C. canis*, pois o ciclo directo oro-fecal é muito eficiente (Dubey *et al.*, 2009). Moscas, baratas ou escaravelhos poderão contribuir igualmente para a disseminação da infecção através de um transporte mecânico dos oocistos esporulados (Lappin, 2010).

3.1.1.2 Epidemiologia

A via de contaminação mais frequente para os cães é a ingestão de oocistos esporulados procedentes das fezes de outros animais doentes que contaminam o meio. Ocasionalmente poderão ocorrer infecções pela ingestão de tecidos provenientes de ruminantes que tenham os quistos monozóicos (Corrales, 1999).

A infecção por *Cystoisospora* é auto-limitante, o que implica que a população de organismos invasores cresce até um máximo e depois quando o hospedeiro desenvolve imunidade, o número decresce de um modo mais ou menos abrupto até à extinção ou até um número reduzido. Números reduzidos de oocistos poderão ser excretados nas fezes durante várias semanas ou meses, mantendo-se a infecção apesar de tudo, inaparente. Contudo, se o

animal estiver perante uma exposição contínua de oocistos infecciosos, existe o risco de se desenvolver doença, visto que a imunidade protectora limita a infecção, mas não a exclui. Se o animal for infectado por outras espécies de coccídias, o mesmo padrão referido em cima ocorrerá, pois a imunidade das infecções por coccídias é altamente específica (Bowman, 2009).

A maioria dos animais infectados não manifesta sintomatologia. Os casos de coccidiose clínica estão muitas vezes associados a situações de vacinação, *stress*, deficiências sanitárias (canis), doenças concomitantes, subnutrição (Corrales, 1999) ou cães vadios (Rochette, 2003). Os cães vadios têm mais probabilidade de ser infectados por *Cystoisospora* spp devido à sua necessidade de caçar para obter alimento, ficando assim sob maior exposição aos hospedeiros paraténicos infectados (Lindsay, Dubey & Blagburn, 1997). O sexo e a raça não influenciam as taxas de excreção de oocistos, contudo os animais jovens têm maior probabilidade de excretar oocistos de *Cystoisospora* spp quando comparados com cães adultos (Lappin, 2010).

É importante entender que a simples identificação de oocistos nas fezes não implica necessariamente um diagnóstico de doença, a não ser que a história e os sinais clínicos estejam de acordo. Números elevados de oocistos podem ser encontrados nas fezes de hospedeiros perfeitamente saudáveis. Por outro lado, poderá ocorrer doença grave e até mesmo fatal durante os estágios assexuais iniciais, antes mesmo de os oocistos terem tido tempo para se desenvolverem. Nestes casos, a doença manifesta-se, mas os oocistos ainda não apareceram nas fezes (Bowman, 2009).

3.1.1.3 Quadro Clínico

A manifestação clínica da doença é mais frequente nos cachorros, podendo exhibir vômito, desconforto abdominal, inapetência e diarreia aquosa, que por vezes contêm sangue (Lappin, 2010; Corrales, 1999) ou muco (Rochette, 2003; Corrales, 1999). Dependendo da idade do animal e da carga parasitária poderá ocorrer desidratação grave e mesmo morte. Os cachorros com infecção subclínica poderão repetir os sinais clínicos da doença e excreção de oocistos durante períodos de *stress* (Lappin, 2010).

2.1.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico definitivo de infecção por *Cystoisospora* spp é efectuado pela demonstração de oocistos em amostras fecais recolhidas de animais afectados (Figura 27) (Lappin, 2010). Nos cães, apenas *C. canis* pode ser identificado com certeza através do tamanho e formato do oocisto. Os oocistos das outras três espécies de *Cystoisospora* podem-se sobrepor em tamanho e a sua distinção não é clinicamente importante (Dubey *et al.*, 2009).

Figura 27: Oocisto de *Cystoisospora* spp não-esporulado. Ampliação:315x. Fonte: Original.



Os oocistos de *Cystoisospora* spp muitas vezes surgem em grandes quantidades, sendo então geralmente fáceis de identificar ao exame microscópico depois de métodos de flutuação fecal. Contudo, animais saudáveis poderão igualmente passar oocistos de *Cystoisospora* e assim resultados positivos nem sempre estão associados a doença clínica. Resultados falso-negativos não são comuns em animais clinicamente infectados, mas ocasionalmente os sinais clínicos poderão preceder a eliminação de oocistos e assim em alguns casos poderá ser necessário uma segunda flutuação fecal para demonstrar a infecção (Lappin, 2010).

3.1.1.5 Tratamento

A infecção por *Cystoisospora* é geralmente auto-limitante e a maioria das infecções em cachorros saudáveis resolvem-se sem ser necessário recorrer a terapia. Contudo a administração de fármacos poderá acelerar a resolução da doença clínica e diminuir a contaminação ambiental e, assim, o potencial para infectar outros animais decresce igualmente (Lappin, 2010). Em caso de sintomatologia clínica, verificada geralmente em animais jovens procedentes de agrupamentos, poderá ser necessário recorrer a tratamento farmacológico (Corrales, 1999). Para resolver a diarreia presente nos cachorros, estão indicados os protocolos listados na tabela 2 (Dubey *et al.*, 2009).

Tratamento de suporte como fluidoterapia para correcção da desidratação poderá ser necessário. A grande maioria das drogas listadas na tabela 2 tem apenas efeito coccidiostático nos organismos e assim as infecções poderão não ser eliminadas. Além do potencial para a irritação gastrointestinal, algumas sulfonamidas poderão apresentar outros efeitos secundários, tais como, queratoconjunctivite seca, colestase, necrose hepatocelular e trombocitopénia (Dubey *et al.*, 2009).

Tabela 2: Fármacos utilizados no tratamento de infecções por *Cystoisospora*. Adaptado de Dubey *et al.*, 2009; Lappin, 2010.

Fármaco	Protocolo
Amprólio	300 a 400 mg dose total, PO, SID, durante 5 dias.
Amprólio – Sulfadimetoxina	150 mg amprolium e 25 mg/kg de sulfadimetoxina, PO, SID, durante 14 dias.
Furazolidona	8 a 20 mg/kg, PO, SID ou BID, durante 5 dias.
Ponazurilo	20 mg/kg, PO, BID, durante 1 a 7 dias, alternadamente.
Ponazurilo	50 mg/kg, PO, dose única.
Sulfadimetoxina	50 a 60 mg/kg, PO, SID, durante 5 a 20 dias.
Trimetoprim – sulfonamida	15 a 30 mg/kg, PO, SID ou BID, durante 5 dias.

3.1.1.6 Profilaxia

Os oocistos de *Cystoisospora* são extremamente resistentes às condições ambientais e aos desinfetantes de uso comum (Bowman, 2009; Dubey *et al.*, 2009; Lappin, 2010). As jaulas, utensílios de comida e outros objectos deverão ser desinfetados através de limpeza a vapor ou com recurso a imersão em água a ferver ou através de uma solução de amónia a 10% (Dubey *et al.*, 2009).

Os animais deverão ter acesso limitado aos hospedeiros paraténicos e não deverão ser alimentados com carne crua. O controlo de insectos é fundamental, sobretudo nas instalações dos animais e nos locais de armazenamento da comida, pois baratas e moscas poderão actuar como vectores mecânicos dos oocistos (Dubey *et al.*, 2009). Um bom saneamento com a remoção precoce das fezes é fundamental, de modo a evitar que ocorra a esporulação dos oocistos. O tratamento farmacológico das cadelas gestantes antes do parto pode diminuir a ocorrência da doença nos cachorros (Lappin, 2010). Em cães com problemas crónicos, está indicado o uso profilático de ponazurilo em cachorros com 2 a 3 semanas de idade (Dubey *et al.*, 2009).

3.1.2 *Cryptosporidium* spp

As espécies pertencentes ao género *Cryptosporidium* (C.) são coccídias que parasitam o estômago e o intestino delgado de um grande número de mamíferos, entre os quais o cão (Scorza & Tangtrongsup, 2010). As espécies de importância em medicina veterinária que são actualmente reconhecidas incluem os seguintes parasitas do intestino delgado: *C. parvum* em vitelos com menos de 30 dias de idade, *C. bovis* em vitelos mais velhos e nas vacas adultas, *C. suis* nos suínos, *Cryptosporidium canis* (Cr. canis) nos cães, *C. felis* nos gatos, *C. meleagridis* e *C. bayleyi* nas aves, *C. vairii* nos porquinhos-da-Índia. Os membros

deste género que parasitam o estômago são *C. muris* no rato, *C. serpentis* na cobra e *C. andersoni* no abomaso da vaca. A espécie que afecta o homem é *C. hominis* (Tabela 3) (Bowman, 2009).

Estes parasitas têm uma distribuição mundial e são importantes agentes patogénicos com interesse veterinário para a saúde pública devido à sua capacidade para provocar doença gastrointestinal, à sua presença ubíqua no ambiente e à sua propensão para provocar surtos através da água e dos alimentos (Lucio-Forster, Griffiths, Cama, Xiao & Bowman, 2010).

Tabela 3: Espécies de *Cryptosporidium* e seus hospedeiros. Adaptado: Thompson *et al.*, 2008; Xiao & Fayer, 2008.

Espécie	Hospedeiro-Tipo
<i>C. andersoni</i>	<i>Bos taurus</i> (bovinos domésticos)
<i>C. baileyi</i>	<i>Gallus gallus</i> (galinha)
<i>Cr. canis</i>	<i>Canis familiaris</i> (cão doméstico)
<i>C. felis</i>	<i>Felis cati</i> (gato doméstico)
<i>C. galli</i>	<i>Gallus gallus</i> (galinha)
<i>C. meleagridis</i>	<i>Meleagris gallopavo</i> (perú)
<i>C. molnari</i>	<i>Sparus aurata</i> (dourada)
	<i>Dicentrarchus labrax</i> (robalo)
<i>C. muris</i>	<i>Mus musculus</i> (murganho)
<i>C. parvum</i>	<i>Bos taurus</i> (bovinos domésticos)
<i>C. serpentis</i>	<i>Elaphe guttata</i> (cobra do milho)
	<i>Elaphe subocularis</i> (cobra rateira)
	<i>Sanzinia madagascarensis</i>
<i>C. suis</i>	<i>Sus scrofa domesticus</i> (porco doméstico)
<i>C. wrairi</i>	<i>Cavia porcellus</i> (porquinho-da-Índia)
<i>C. hominis</i>	<i>Homo sapiens</i> (homem)

A espécie zoonótica que geralmente infecta as pessoas, e muitas vezes os estudantes de medicina veterinária, é *C. parvum*. As outras espécies zoonóticas que pontualmente podem infectar as pessoas, mas de um modo mais raro, são *Cr. canis*, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. muris* e *C. suis* (Tabela 4) (Bowman, 2009).

Tabela 4: Espécies de *Cryptosporidium* que infectam humanos e outros hospedeiros. Adaptado: Xiao & Fayer, 2008.

Espécie	Hospedeiros
<i>C. andersoni</i>	Bovinos, ovelhas, esquilo da Mongólia, perdiz
<i>C. baileyi</i>	Galinha, pato, codorniz
<i>Cr. canis</i>	Cão, raposa, coiote
<i>C. felis</i>	Gato, bovinos
<i>C. hominis</i>	Primatas, bovinos, ovelhas, porcos, dugongo
<i>C. meleagridis</i>	Peru, galinha, cão, perdiz, rato
<i>C. muris</i>	Rato, hamster, esquilo, gato, coiote, cabra da montanha
<i>C. parvum</i>	Vitelo, borrego, cavalo, alpaca, cão, rato, esquilo
<i>C. suis</i>	Bovinos

3.1.2.1 Ciclo Biológico

Cr. canis é transmitido por via oro-fecal (Scorza & Tangtrongsup, 2010). Os oocistos são excretados nas fezes dos animais infectados, cada um contendo 4 esporozoítos no interior (Xiao & Fayer, 2008). A infecção pode ocorrer directamente por coprofagia, durante a limpeza do pêlo, pela predação de espécies infectadas ou indirectamente pela ingestão de comida ou água contaminada (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Depois de ingeridos pelo cão, os oocistos abrem ao longo de uma linha de sutura preexistente, libertando os 4 esporozoítos na metade inferior do intestino delgado (Bowman, 2009), que acabam por invadir as células epiteliais (Xiao & Fayer, 2008). Todos os estádios endógenos que se seguem são intracelulares mas extracitoplasmáticos (Xiao & Fayer, 2008), ocorrendo em vacúolos parasitóforos das microvilosidades intestinais (Bowman, 2009). Seguem-se então as fases de replicação assexual (esquizogonia ou merogonia) e multiplicação sexual (gametogonia). Os zigotos resultantes da fase de reprodução sexual vão originar oocistos de parede-espessa e de parede-fina, cada qual contendo 4 esporozoítos. Aproximadamente 20% dos oocistos são de parede-fina, possuindo uma série de membranas a envolver os esporozoítos em desenvolvimento, em vez de uma verdadeira parede. Os oocistos de parede-fina rupturam ainda no intestino, libertando esporozoítos, provocando auto-infecção. Os oocistos de parede-espessa são excretados pelas fezes, contaminando assim o ambiente (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

O ppp de *Cr. canis* é de 8-10 dias e o período patente tem sido referido que dura entre algumas semanas, podendo mesmo chegar aos 6 meses, mas com uma passagem de oocistos variável (Villeneuve, 2009).

3.1.2.2 Epidemiologia

Os oocistos de *Cr. canis* veiculados nas fezes recém emitidas, já vêm esporulados e são portanto imediatamente infecciosos. São igualmente extremamente resistentes a extremos ambientais e à maior parte dos desinfectantes de uso comum (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Estudos recentes realizados em diversos países revelaram taxas de prevalência que variam entre 0,5% e 44,1%. As variações encontradas podem ser devidas em parte ao método de detecção utilizado, assim como ao tipo de população testada (Lucio-Forster *et al.*, 2010).

Cr. canis não aparenta ser um parasita comum dos cães. Contudo, o facto de a excreção dos oocistos ser mais comum em animais jovens e sob *stress* sugere que infecções crónicas e subclínicas possam ser mais comuns do que o relatado pelos estudos (Thompson *et al.*, 2008).

A existência de espécies de *Cryptosporidium* adaptadas especificamente a um tipo de hospedeiro indica que a transmissão cruzada entre diferentes grupos de animais é limitada. A transmissão cruzada entre espécies é possível quando os animais partilham um habitat semelhante ou o parasita é biologicamente capaz de infectar diversas espécies de hospedeiros (Xiao & Fayer, 2008).

3.1.2.3 Sinais Clínicos e Patogenia

A maior parte dos cães infectados por *Cryptosporidium* spp não apresentam sintomatologia. Os casos clínicos sintomáticos são geralmente descritos em animais com menos de 6 meses de idade ou em animais com supressão do sistema imunitário. Está descrito que a co-infecção com outros protozoários, como *Giardia* spp poderá estar associada com a presença de sintomatologia (Lucio-Forster *et al.*, 2010; Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Os sinais clínicos mais comuns da doença são diarreia do intestino delgado, anorexia e perda de peso. A diarreia é geralmente aquosa, sem muco, nem sangue ou melena. O vômito é pouco comum a não ser que existam outras doenças associadas. À palpação abdominal o intestino delgado poderá surgir ligeiramente espessado (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

A infecção por *Cryptosporidium* spp está associada com atrofia das vilosidades, fusão das vilosidades e inflamação, o que resulta na perda de área com superfície absorptiva e defeitos no transporte de nutrientes. Não é claro o modo pelo qual o parasita interfere com a função celular mas parece que é capaz de prevenir e induzir a apoptose (Thompson *et al.*, 2008).

3.1.2.4 Diagnóstico

O método de flutuação com centrifugação em soluções saturadas de açúcar é utilizado de uma forma recorrente em clínica, contudo devido ao reduzido tamanho dos oocistos (4-6

µm) e ao facto de serem excretados em pequenos números e apresentarem uma coloração translúcida (Figura 28), torna este método pouco sensível (Lucio-Forster *et al.*, 2010).

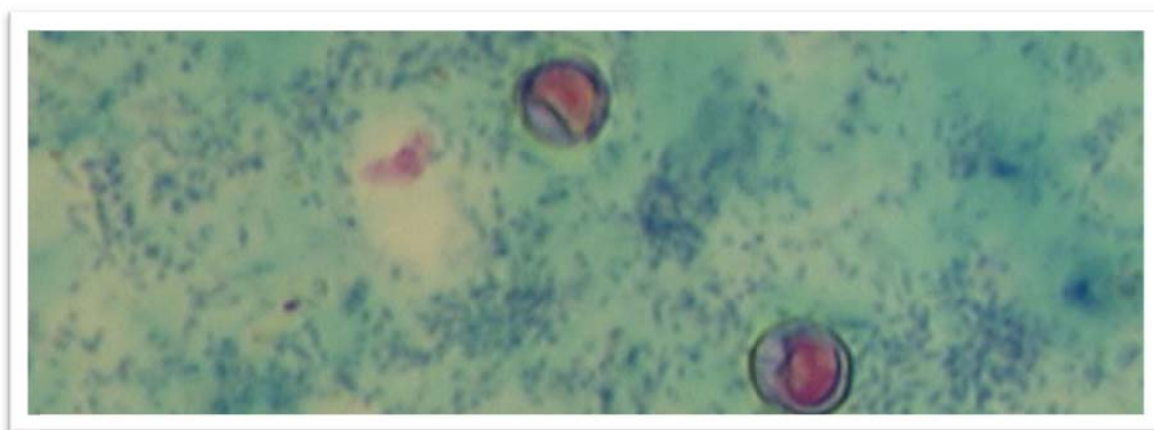
A técnica de esfregaço de Ziehl-Neelsen modificado é geralmente utilizada para detectar oocistos de *Cryptosporidium* spp nas fezes de vacas. Contudo, quando utilizada em fezes de cães poderá ter uma baixa sensibilidade, devido ao reduzido número de oocistos excretados por esta espécie. Nesta técnica, os oocistos surgem ao microscópio óptico com um formato de esferas com coloração rosada ou avermelhadas, com aproximadamente 5 µm de diâmetro (Figura 29). Ainda dentro das técnicas microscópicas, estão disponíveis testes comerciais de imunofluorescência directa (IFD) que detectam simultaneamente quistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium*, possuindo sensibilidade e especificidade maiores que as outras técnicas microscópicas. A técnica de IFD tem como grande vantagem o facto de combinar o reconhecimento imunológico dos organismos com a avaliação morfológica microscópica (Figura 30), o que faz com que reacções falso-positivas sejam incomuns. Por outro lado, a grande desvantagem prende-se com o facto de ser necessário um microscópio de fluorescência (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Figura 28 : Oocistos de *C. parvum* (circulo branco) após flutuação fecal, juntamente com oocistos de *Toxoplasma gondii* (seta preta). Ampliação: 1200x. Adaptado: Scorza & Tangtrongsup, 2010.



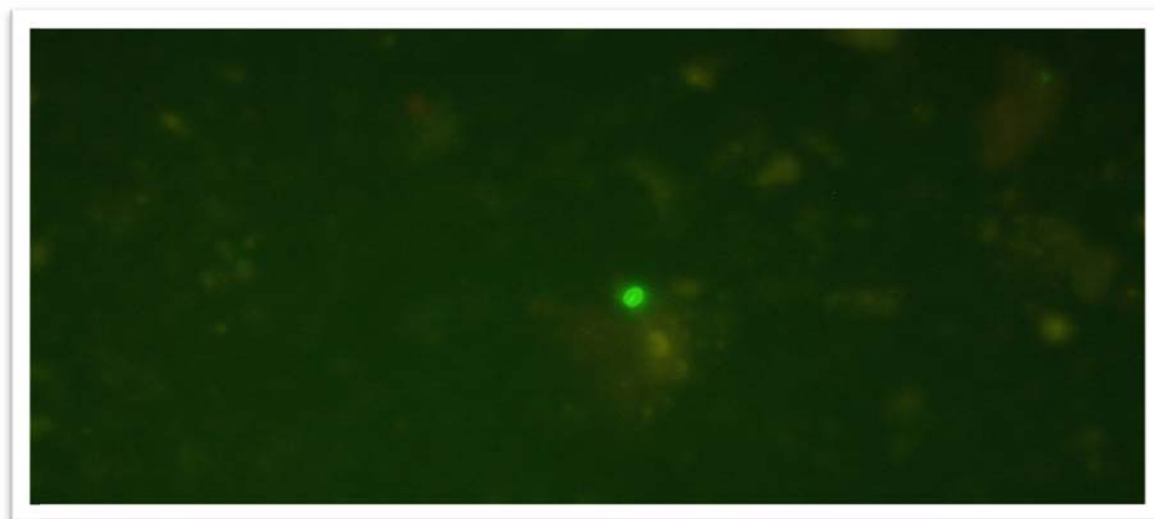
Existem vários testes de antígenos fecais para a detecção de antígenos de *C. parvum* em fezes humanas. Contudo, quando este teste é aplicado em fezes de cães, os resultados são inconsistentes. Esta análise utiliza anticorpos gerados contra *C. parvum* o que torna possível ocorrerem resultados falso-negativos quando utilizados em fezes de cães, devido às diferenças antigénicas existentes entre *C. parvum* e *Cr. canis* (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Figura 29: Oocistos de *C. parvum* visualizados pela coloração de Zielh-Nelseen. Ampliação: 2400x.
Adaptado: Scorza & Tangtrongsup, 2010.



Métodos de diagnóstico molecular têm a capacidade de determinar as espécies de oocistos presentes e assim providenciar dados importantes sobre o potencial para transmissão zoonótica (Lucio-Forster *et al.*, 2010). O ADN (ácido desoxirribonucleico) do género *Cryptosporidium* pode ser amplificado a partir de fezes de cão pelo método de PCR (*polymerase chain reaction*) (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Figura 30: Oocisto de *Cryptosporidium* obtido pela técnica de IFD em fezes de cão. Ampliação: 600x.
Fonte: Original.



3.1.2.5 Tratamento e Prevenção

Não existe actualmente tratamento específico eficaz contra as infecções por *Cryptosporidium* spp em animais (Bowman, 2009).

O objectivo principal do tratamento é parar a diarreia. Dietas com alta digestibilidade utilizadas em casos de diarreia do intestino delgado podem ser administradas. Fluidoterapia endovenosa está indicada se o animal estiver gravemente desidratado. Em situações em

que ocorram infecções bacterianas secundárias poderá ser necessário recorrer a antibióticos. A administração de soluções de reidratação oral que contenham glutamina poderá ajudar como tratamento de suporte devido à perda das células absorptivas epiteliais. Fármacos como a azitromicina, tilosina, paromomicina e nitazoxanida têm sido utilizados em cães com criptosporidiose, contudo o número de estudos publicados ainda é reduzido, o que não permite obter protocolos seguros e consistentes, devendo o tratamento ser ajustado consoante as necessidades de cada paciente (Tabela 5). A paromomicina não deve ser administrada a animais com diarreia devido à possibilidade de ocorrer absorção com consequente nefrotoxicidade (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Tabela 5: Protocolos para o tratamento de infecções por *Cryptosporidium* no cão. Fonte: Scorza & Tangtrongsup, 2010.

Fármaco	Protocolo
Azitromicina	10 mg/kg, PO, SID , até resolução dos sinais clínicos.
Nitazoxanida	25 mg/kg, PO, BID, durante pelo menos 7 dias.
Paromomicina	125 a 165 mg/kg, PO, SID ou BID, durante pelo menos 5 dias.
Tilosina	10 a 15 mg/kg, PO, BID ou TID, durante 21 dias.

Para a eliminação de oocistos de *C. parvum* no ambiente está indicado a utilização de soluções com 5% de amónia (Center for Food Security & Public Health [CFSPH], 2005d).

2.1.2.6 Impacto Zoonótico

Nos últimos anos verificou-se um aumento do interesse na detecção e caracterização de *Cryptosporidium* spp nos animais de companhia, uma vez que os cães poderiam abrigar espécies de *Cryptosporidium* com potencial zoonótico (Lucio-Forster *et al.*, 2010). Contudo, os estudos com genotipagem dos oocistos recolhidos de fezes de cães e gatos têm demonstrado que estes são principalmente infectados com espécies de *Cryptosporidium* adaptadas ao hospedeiro, isto é, *Cr. canis* no cão e *C. felis* no gato (Thompson *et al.*, 2008). Além do mais, apesar do estreito contacto existente actualmente ente o homem e o cão/gato, as espécies de *Cryptosporidium* adaptadas aos pequenos animais não são achados comuns na espécie humana (Xiao & Fayer, 2008), sendo o homem geralmente infectado com *C. hominis* e *C. parvum* (Scorza & Tangtrongsup, 2010). Assim, os cães e gatos não aparentam ser reservatórios zoonóticos importantes da infecção por *Cryptosporidium* no homem (Thompson *et al.*, 2008; Xiao & Fayer, 2008; Lucio-Forster *et al.*, 2010).

Por outro lado, existe actualmente informação epidemiológica suficiente que demonstra uma forte associação entre o contacto com bovinos infectados e a criptosporidiose no homem

(Thompson *et al.*, 2008). Um grupo de risco nos seres humanos são os que possuem um sistema imunitário deprimido, em especial os portadores da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), as crianças, os idosos, aqueles que estão a tomar medicação imunossupressora e os malnutridos (Hunter & Thompson, 2005; Lucio-Forster *et al.*, 2010).

No homem, a criptosporidiose manifesta-se através de diarreia, náusea, vomito, dor abdominal e mal-estar generalizado. Em pacientes com imunodeficiência, como os já referidos, a infecção poderá manifestar-se noutros órgãos, tais como, o pâncreas, fígado, ducto biliar e tracto respiratório. Em pacientes imunocompetentes a doença pode durar entre poucos dias a várias semanas, sendo que após esta altura o hospedeiro poderá desenvolver uma resistência parcial aos sinais clínicos da doença. Contudo, poderá desenvolver-se uma forma crónica da doença com desidratação e desequilíbrio electrolítico em indivíduos com um sistema imunitário imaturo ou comprometido. Nestes casos, a criptosporidiose poderá levar à morte (Lucio-Forster *et al.*, 2010).

Num estudo efectuado nos EUA entre pacientes com SIDA, o autor concluiu que os animais de companhia não representam um factor de risco importante para a aquisição de criptosporidiose (Glaser, Safrin, Reingold & Newmam, 1998).

Hunter e Thompson (2005) e Lucio-Forster *et al.* (2010) referem que o contacto regular com o cão e gato, além de não estar associado com a criptosporidiose no homem, poderá ser benéfica, no sentido em que a exposição repetida a baixas doses de *Cryptosporidium* spp confere uma optimização da imunidade, com um consequente efeito protector.

Os veterinários e médicos devem informar os seus clientes dos riscos mínimos que um cão representa na transmissão zoonótica de *Cryptosporidium* spp. Não obstante, deverão frisar que é importante minimizar o contacto com as fezes dos seus animais, principalmente se os seus clientes ou outros membros do agregado familiar estiverem imunossuprimidos (Lucio-Forster *et al.*, 2010).

3.2 Flagelados

3.2.1 *Giardia* spp

Os membros pertencentes ao género *Giardia* spp são protozoários flagelados que estão presentes no tracto intestinal de humanos, animais domésticos e animais silváticos, incluindo aves e anfíbios, apresentando uma distribuição mundial (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Seis espécies de *Giardia* (G.) foram distinguidas com base em características obtidas através de microscopia óptica e electrónica (Tabela 6). Cinco destas espécies referem-se a isolados obtidos a partir de anfíbios (*G. agilis*), aves (*G. ardeae*, *G. psittaci*), roedores (*G. muris*) e murganhos (*G. microti*) (Plutzer, Ongerth & Karanis, 2010). A outra espécie, *G. duodenalis* (*G. intestinalis* e *G. lamblia* são sinónimos) infecta o homem, assim como cães, gatos, bovinos, porcos, ovelhas e equinos (Rosa *et al.*, 2007; Tangtrongsup & Scorza, 2010).

De acordo com a nova sistemática baseada em dados genéticos, estruturais e bioquímicos, o género *Giardia* pertence ao Filo Metamonada, Subfilo Trichozoa, Superclasse Eophanryngia, Classe Trepomonadea, Subclasse Diplozoa, Ordem Giardiida e Família Giardiidae. Assim, a antiga classificação baseada na morfologia, que colocava a *Giardia* no Filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora (flagelados), Classe Zoomastigophorea, Ordem Diplomonadida e Família Hexamitidae deixa de fazer efeito (Plutzer *et al.*, 2010).

Actualmente verifica-se um consenso na comunidade científica referente às origens primitivas do género *Giardia* que o coloca numa das ramificações iniciais da linhagem eucariótica que divergiu antes da aquisição de mitocôndrias. O género *Giardia* mantém-se assim como um organismo chave na tentativa de entender a evolução das células eucarióticas (Thompson, 2004).

G. duodenalis é um organismo tipicamente eucariota no que se refere à presença de um núcleo distinto com membrana nuclear, de citoesqueleto e um sistema de endomembranas. Contudo, falta-lhe outros organelos que são quase universais nos eucariotas, tais como o nucléolo e os peroxissomas. Além do mais, o género *Giardia* é anaeróbico, não possuindo mitocôndrias nem nenhum dos componentes da fosforilação oxidativa (Adam, 2001).

G. duodenalis é uma espécie complexa, que engloba uma variedade de genótipos genética e fenotipicamente distintos mas morfologicamente similares, exibindo também diferenças na especificidade do hospedeiro. Estes grupos genotípicos estão em termos geográficos largamente distribuídos e geneticamente conservados (Thompson, 2004). Esta falta de diferenças morfológicas entre as variantes genéticas de *G. duodenalis* presente nos mamíferos levou a uma categorização informal, baseada em diferenças genéticas. Deste modo, actualmente estão definidos sete grupos genéticos, agrupamentos ou *assemblages* que vão desde a letra “A” até à letra “G” (Smith, Cacciò, Cook, Nichols & Tait, 2007).

Tabela 6: Espécies reconhecidas de *Giardia*. Adaptado: Thompson, 2004; Xiao & Fayer, 2008.

Espécie	Hospedeiros
<i>G. duodenalis</i>	Vários mamíferos domésticos e selvagens, incluindo o homem
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. microtti</i>	Murganhos

As *assemblages* A e B possuem uma especificidade de hospedeiros muito extensa, tendo sido encontrados em humanos, cães, gatos, bovinos e também animais selvagens. A *assemblage* A consiste na sua maioria em dois subgrupos A I e A II, não existindo nenhum subgrupo claro na *assemblage* B. As *assemblages* C e D infectam apenas os cães. A

assemblage E infecta os artiodáctilos, enquanto as *assemblages* F e G infectam apenas gatos e roedores, respectivamente (Tabela 7) (Xiao & Fayer, 2008).

Tabela 7: *Assemblages* pertencentes à espécie *G. duodenalis*. Adaptado: Xiao & Fayer, 2008.

<i>Assemblage</i>	Hospedeiros
A	Homem, primatas, cão, gato, bovinos, roedores, mamíferos selvagens
B	Homem, primatas, cão, cavalo, bovinos
C	Cão
D	Cão
E	Artiodáctilos
F	Gatos
G	Roedores

3.2.1.1 Taxas de Prevalência

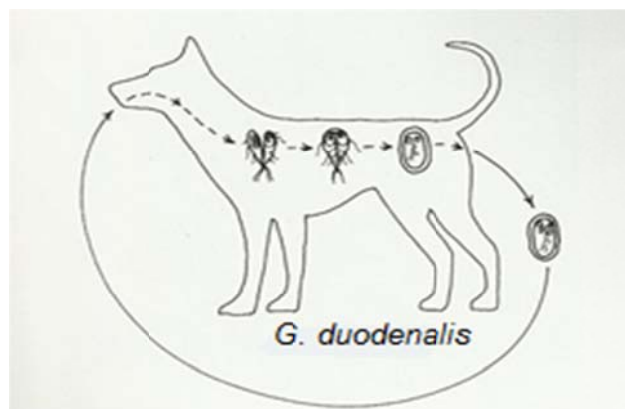
A infecção por *Giardia* tem uma distribuição cosmopolita, apresentando prevalências de aproximadamente 10% em cães bem tratados, 30-50% em cachorros e até 100% em canis. As prevalências citadas variam de acordo com a localização geográfica, com diferenças na definição da população em estudo, nos diferentes métodos utilizados para determinar a prevalência e diagnóstico, na dificuldade na identificação dos quistos e na eliminação intermitente do parasita (Rosa *et al.*, 2007).

3.2.1.2 Ciclo Biológico

O género *Giardia* não é invasivo após a infecção por ingestão, vivendo e aumentando de número por multiplicação assexual na superfície luminal do intestino delgado dos seus hospedeiros vertebrados. Produz quistos ambientalmente resistentes que são veiculados nas fezes e transmitidos directamente ou através da comida e água, para outro hospedeiro (Figura 31) (Thompson, 2000).

Existem dois estádios de *Giardia* spp no seu ciclo de vida, o trofozoíto e o quisto. O trofozoíto em forma de lágrima é a forma activa e móvel encontrada no tracto intestinal. Tem aproximadamente 15 µm de comprimento e 8 µm de largura. O quisto tem um formato elipsoidal e representa o estágio resistente no ambiente, o qual vai ser o responsável pela transmissão da doença. Tem aproximadamente 12 µm de comprimento e 7 µm de largura (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Figura 31: Ciclo de vida de *G. duodenalis* no cão. Adaptado: Fayret, 2001.



Os trofozoítos de *Giardia* spp colonizam o intestino delgado de hospedeiros susceptíveis, onde se replicam por fissão binária. Os trofozoítos mantêm-se no lúmen entérico livres ou aderentes à mucosa através de um disco sugador ventral. A formação dos quistos ocorre à medida que o parasita se movimenta em direcção ao cólon (Ballweber, Xiao, Bowman, Kahn & Cama, 2010), em resposta a certas condicionantes, tais como, a presença de sais biliares no intestino. Estes quistos excretados nas fezes contêm um trofozoíto com a mitose interrompida. Após a ingestão pelo hospedeiro, a mitose é reiniciada no lúmen intestinal (Xiao & Fayer, 2008). Cada quisto divide-se em dois trofozoítos no duodeno (Rochette, 2003) por acção do ácido gástrico e de enzimas pancreáticas (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

O ppp de *Giardia* em cães é de 5-16 dias e a excreção de quistos é muitas vezes acíclica (Thompson, Palmer & O'Handley, 2008).

3.2.1.3 Epidemiologia

A presença de *Giardia* em cães tem sido declarada mundialmente. As prevalências citadas variam consideravelmente entre estudos e são muitas vezes influenciados pela sensibilidade dos testes diagnósticos utilizados e se na análise efectuada se utilizaram uma ou mais amostras fecais do mesmo animal, dada a natureza intermitente da excreção dos quistos (Thompson *et al.*, 2008).

A infecção é mais comum em animais jovens e em populações de canis. Outra tendência verificada é que a infecção é mais comum no inverno (Ballweber *et al.*, 2010). As taxas de detecção são semelhantes em animais com e sem diarreia (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Os quistos, que representam o estágio de transmissão, são produzidos em grandes quantidades e são infecciosos logo que excretados (Smith *et al.*, 2007), pois ao contrário dos helmintes e algumas coccídias, os quistos de *Giardia* não necessitam de um período de maturação após a excreção nas fezes (Plutzer *et al.*, 2010).

Os quistos de *Giardia* são transmitidos directa ou indirectamente pela via fecal-oral (Plutzer *et al.*, 2010), de tal forma que os animais doentes e assintomáticos actuam como fontes de

infecção (Banos *et al.*, 1999). Pequenas quantidades de quistos (10-100) são suficientes para dar início a uma infecção (Ballweber *et al.*, 2010). Quando fora do hospedeiro, os quistos são muito resistentes e podem resistir durante vários meses em condições húmidas e frias. No entanto são susceptíveis à desidratação em condições secas e quentes (Tangtrongsup & Scorza, 2010), o que explica a sobrevivência durante vários meses dos quistos de *Giardia* em águas superficiais e no solo (Plutzer *et al.*, 2010).

3.2.1.4 Patogenia

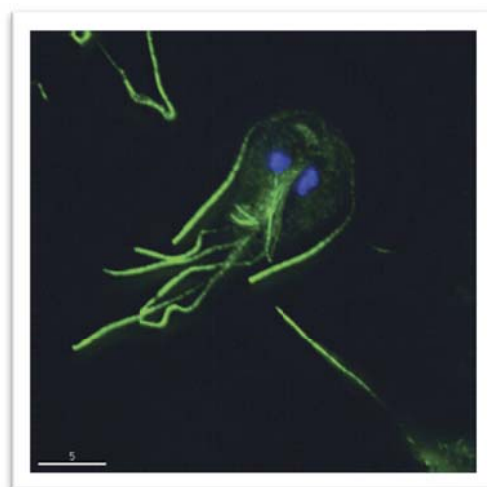
Apesar de a patogénese da infecção por *Giardia* não estar completamente esclarecida, estudos efectuados *in vivo* e *in vitro* revelam que os mecanismos são multifactoriais (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Os trofozoítos colonizam o intestino delgado do hospedeiro, predominando na região média do jejuno. Aderem através das suas superfícies ventrais côncavas (disco adesivo ventral) à parede intestinal, de onde obtêm os nutrientes necessários e evitam o transporte para regiões mais caudais do intestino. Não está documentada a ocorrência de invasão celular ou adesão mediada por receptores (Adam, 2001).

O citoesqueleto de *Giardia* é o responsável pela sua estrutura única e pelas suas adaptações a uma vida parasítica, sendo composto por várias estruturas, nos quais se inclui a presença de flagelos (oito no seu total) (Figura 32), do já referido disco ventral e do corpo médio (Elmendorf, Dawson & McCaffery, 2003).

Assim, o citoesqueleto e sobretudo o disco ventral possuem um papel essencial na sobrevivência do organismo no intestino do hospedeiro (Adam, 2001)

Figura 32: Micrografia de fluorescência de um trofozoíto de *Giardia* corado com anticorpos contra as tubulinas (verde), destacando os seus oito flagelos e com DAPI (azul) para visualizar o ADN nos dois núcleos. Ampliação: 2500x. Adaptado: Logsdon, 2008.



No intestino, *Giardia* tem de ser capaz de nadar e aderir à camada epitelial para evitar ser evacuada pelos movimentos peristálticos. No entanto, devido ao facto das células intestinais e das camadas de muco estarem em constante renovação, é igualmente imperativo que os trofozoítos sejam capazes de se destacar de uma superfície inadequada e de nadarem e aderirem a um local mais apropriado. Este ciclo contínuo de nadar, aderência e destacamento não está completamente elucidado, contudo estudos recentes indicam um papel importante do disco ventral no destacamento, aparentemente por contracção das extremidades anterior e posterior do disco, libertando assim o parasita e permitindo que nade (Elmendorf *et al.*, 2003).

Uma das alterações fundamentais do processo fisiopatológico que se desencadeia após a adesão de *Giardia* aos enterócitos é uma alteração da permeabilidade epitelial que parece resultar do efeito citopático directo induzido pelos produtos do parasita. As proteínas membranares periféricas que desempenham um importante papel na regulação da permeabilidade do epitélio, encontram-se lesadas. Consequentemente, ocorre um aumento da permeabilidade epitelial o que conduz a uma resposta inflamatória e a alterações digestivas e absorptivas, que estão correlacionadas com lesão na bordadura em escova e a défices nas dissacaridases intestinais. *Giardia* também induz apoptose através de perda da função da barreira epitelial e do aumento da permeabilidade. A apoptose e a gravidade da doença são determinadas por factores de virulência dependentes da linhagem do parasita, assim como pelo desenvolvimento, nutrição e estado imunológico do hospedeiro (Thompson, 2004).

Deve ser referido que um aumento da permeabilidade intestinal pode resultar na absorção de antígenos presentes no lúmen, o que poderá exacerbar a ocorrência de desordens alérgicas, uma complicação muitas vezes referida nos casos de infecções por *Giardia* no homem e um factor que pode confundir a etiologia de desordens nutricionais (Thompson, 2004).

Os trofozoítos de *Giardia* exercem uma acção espoliadora sobre os principais elementos nutricionais, tomando para o seu próprio metabolismo proteínas, hidratos de carbono, gorduras ingeridas pelo hospedeiro e interferindo no metabolismo deste. Foi igualmente demonstrado que *Giardia* tem uma acção vectorial importante, já que estes organismos são capazes de transportar no seu interior outros agentes patogénicos, tais como vírus, bactérias, micoplasmas e fungos (Banos *et al.*, 1999).

3.2.1.5 Sinais Clínicos

Apesar de *Giardia* ser um organismo comum em cães, a maioria dos animais mantém-se assintomáticos. A doença clínica está geralmente associada a cachorros e a animais de canil, nos quais os efeitos de excesso de população, do desmame e de deficiências

nutricionais poderão causar *stress* e exacerbar os efeitos de uma infecção (Thompson *et al.*, 2008).

Os sinais clínicos variam entre um ligeiro desconforto abdominal a dor abdominal grave e cólicas, associado ou não à presença de diarreia. Esta quando ocorre é pastosa a líquida, podendo verificar-se a presença de muco na superfície, de um odor forte e de esteatorreia (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Não é observado sangue nas fezes (Ballweber, 2010). A diarreia é geralmente auto-limitante em animais imunocompetentes (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Em alguns animais verifica-se má-absorção com consequente perda de peso e de condição corporal. À palpação abdominal, o intestino delgado poderá estar ligeiramente espessado. A maioria dos animais infectados não tem febre (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

A gravidade da doença poderá resultar de uma interacção entre factores do hospedeiro e da linhagem do agente infeccioso (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

A giardiose é geralmente controlada por um sistema imunitário saudável mas pode ser fatal em indivíduos com a imunidade comprometida (Rosa *et al.*, 2007).

3.2.1.6 Diagnóstico

É importante fazer uma triagem para estas infecções com técnicas de rotina, pois a grande maioria dos animais infectados não manifesta sinais clínicos da doença e também pelo facto de geralmente estarem associadas a infecções concorrentes (Villeneuve, 2009).

Os picos de excreção de quistos não ocorrem ciclicamente, mas sim de um modo esporádico, sendo que a duração entre dois picos é de geralmente 2-7 dias. Assim, um único resultado negativo, não pode excluir definitivamente a infecção (Tangtrongsup & Scorza, 2010), pelo que se devem recolher várias amostras durante 4-5 dias (Thompson *et al.*, 2008).

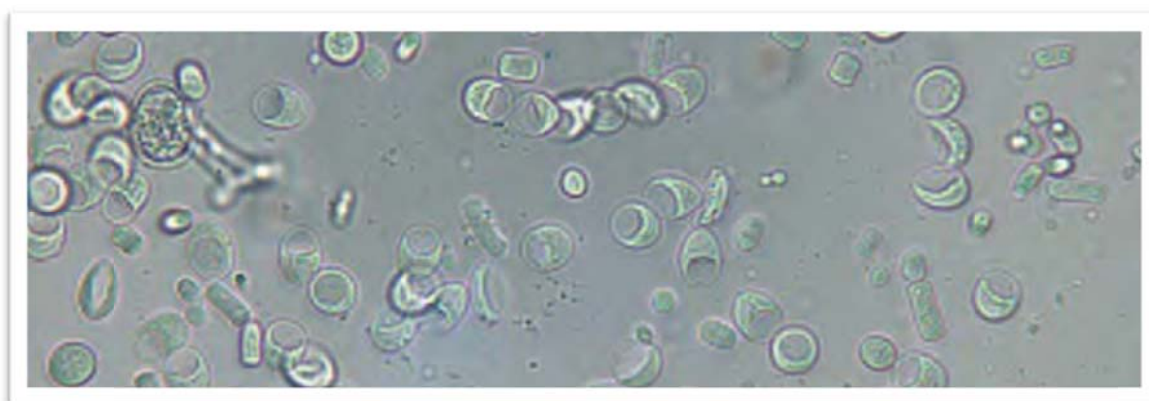
O esfregaço fecal directo poderá ser utilizado na clínica para avaliar a presença de trofozoítos de *Giardia*. Deverá ser utilizada a camada superficial das fezes ou o muco se presente, pois os trofozoitos encontram-se geralmente nesta área. A aplicação no esfregaço de solução de lugol ou azul-de-metileno ajuda a visualizar as estruturas internas dos trofozoítos. Uma amostra refrigerada ou uma amostra que seja analisada várias horas depois da recolha provavelmente não terá organismos vivos (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

A microscopia óptica mantém-se como a abordagem mais prática para o diagnóstico de *Giardia* em cenário de clínica (Thompson *et al.*, 2008), utilizada depois de métodos de flutuação centrífuga com sulfato de zinco (gravidade específica = 1.18) (Figura 33) ou flutuação centrífuga com açúcar (gravidade específica = 1.27). Estes métodos são mais sensíveis para a detecção de quistos de *Giardia* quando comparados com métodos de flutuação passiva. A solução de açúcar é hipertónica, empurrando o citoplasma dos quistos

para um dos lados, dando uma aparência de meia ou um quarto de lua, o que faz com que alguns parasitologistas prefiram o sulfato de zinco (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

As lâminas de microscópio deverão ser vistas entre 15 – 20 minutos após a preparação pois os quistos irão colapsar eventualmente o que torna a identificação destes, mais complicada. Caso seja impossível a observação imediata das lâminas ao microscópio é possível efectuar um armazenamento a 4°C durante alguns dias, não podendo, no entanto, ser congeladas. Do mesmo modo, caso se verifique um atraso na análise das amostras de fezes, estas podem ser refrigeradas mas não congeladas (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Figura 33: Quistos de *Giardia*, centrifugação em sulfato de zinco. Ampliação: 580x. Adaptado: Villeneuve, 2009.



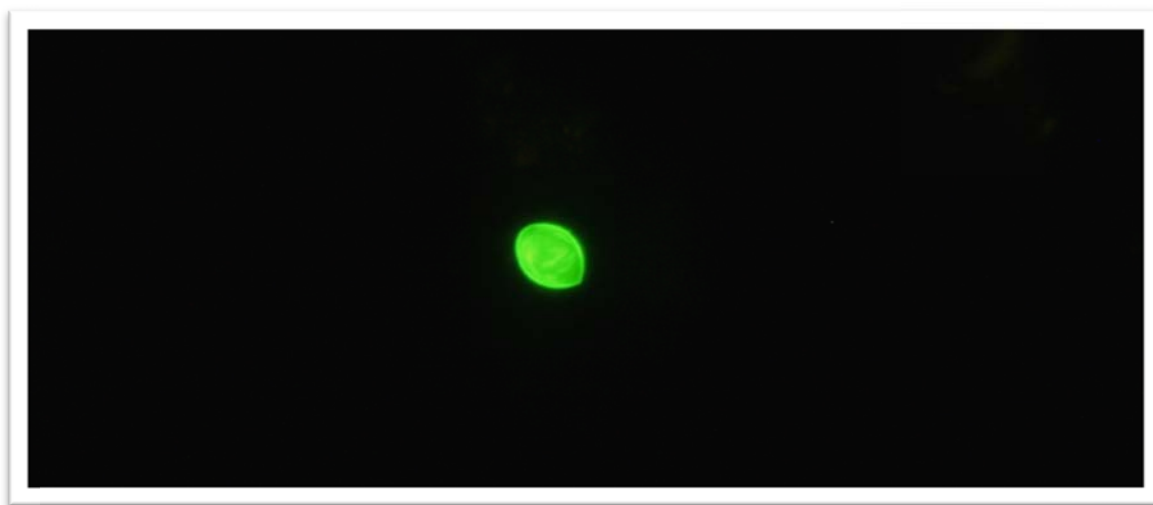
Existem vários testes ELISA disponíveis actualmente que detectam coproantígenos, apresentando resultados bastante bons, contudo são relativamente caros (Thompson *et al.*, 2008). Estes testes apresentam valores na ordem dos 2% para falso-positivos e falso-negativos. Os falso-positivos ocorrem muito possivelmente devido à ligação não-específica de outros coproantígenos aos reagentes, enquanto uma possibilidade avançada para os falso-negativos seja o limite de sensibilidade do teste (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

O desenvolvimento de testes comerciais de imunofluorescência directa (IFD) melhorou a sensibilidade da detecção e quantificação de quistos de *Giardia* e permite agora uma maior precisão na determinação de taxas de prevalência e das intensidades de excreção dos quistos quando comparado com a microscopia convencional (Thompson, 2004). Estes testes recorrem a anticorpos monoclonais com marcador fluorescente que reagem com os quistos de *Giardia*, tornando possível a sua visualização no microscópio de fluorescência (Figura 34). Alguns investigadores consideram a IFD como o teste padrão de referência para a detecção de quistos de *Giardia* nas fezes de cães (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Análises por PCR podem ser utilizadas para amplificar o ADN de *Giardia* presente nas fezes. A *assemblage* pode ser determinada através da avaliação da sequência de ADN a partir do produto de PCR. Os resultados para a determinação da *assemblage* poderão variar consoante o gene escolhido e assim é possível que alguns isolados de cães possam ser

genotipados como “potencialmente zoonóticos” por um gene mas como “específico para o hospedeiro” por outro gene (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Figura 34: Quisto de *G. duodenalis*, IFD, fezes de cão. Ampliação: 900x. Fonte: Original.



3.2.1.7 Tratamento e profilaxia

Existem variadas causas para diarreia nos cães e a infecção por *Giardia* não será propriamente uma causa comum. Se forem encontrados quistos de *Giardia* no exame coprológico, o animal deverá ser tratado, independentemente de estar doente ou assintomático. O tratamento é necessário devido ao potencial zoonótico de *Giardia* e também porque o significado da infecção nos animais ainda não está completamente esclarecido (Thompson *et al.*, 2008).

O tratamento para a giardiose nos cães pode ser efectuado com febendazol (Bowman, 2009, Thompson *et al.*, 2008), sendo eficaz na dosagem de 50 mg/kg, por via oral, uma vez por dia, durante 3 dias. Este fármaco é igualmente eficaz contra *Ancylostomatidae*, *Trichuris* e *Toxocara*, além de ser seguro de administrar a fêmeas em gestação e cachorros a partir das 6 semanas de idade. O oxfendazole foi testado experimentalmente com sucesso na eliminação da infecção, com a dose de 11,3 mg/kg por via oral, uma vez por dia, sem apresentar sinais de toxicidade (Thompson *et al.*, 2008).

O febantel é um probenzimidazol, metabolizado em febendazol e oxfendazol, que possui uma margem de segurança bastante ampla. Em alguns países está registado para o tratamento da giardiose em cães, um produto combinado que contém 50 mg de praziquantel, 144 mg de emboato de pirantel e 150 mg de febantel (Drontal®Plus, Bayer), estando indicado a administração de uma dose diária do comprimido, durante três dias consecutivos (Thompson *et al.*, 2008; Bowman, 2009; Tangtrongsup & Scorza, 2010).

O tratamento com albendazol (25 mg/kg, de 12 em 12h, num total de 4 doses) demonstrou parar a excreção de quistos de *Giardia* em cães infectados, contudo está documentado que

este fármaco tem potencial para induzir supressão da medula óssea (Bowman, 2009; Thompson, 2008), não devendo assim ser utilizado para o tratamento de doenças parasitárias em cães (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Outros tratamentos que têm sido utilizados para eliminar infecções por *Giardia* são: quinacrina (6,6 mg/kg duas vezes por dia, durante 5 dias), tinidazol (44 mg/kg uma vez por dia, durante 3 dias) e metronidazol (22 mg/kg por via oral, duas vezes por dias, durante 5 dias) (Bowman, 2009). Este último, apesar de ser eficaz em situações em que os achados clínicos sugerem uma infecção concomitante por *Clostridium perfringens* (Tangtrongsup & Scorza, 2010), tem sido associado com alguns efeitos secundários decorrentes da sua administração, tais como, anorexia, vômito e sinais de toxicidade do SNC (Thompson *et al.*, 2008; Tangtrongsup & Scorza, 2010). Estes efeitos secundários resultam quer de um excesso de dosagem, quer do uso crónico, o que sugere que poderá ocorrer neurotoxicidade cumulativa (Tangtrongsup & Scorza, 2010). A resistência de *Giardia* ao metronidazol poderá igualmente surgir no seguimento de um uso excessivo (Thompson *et al.*, 2008)

A adição de fibra à dieta poderá ajudar em alguns animais a controlar os sinais clínicos da doença, através da contenção do sobrecrecimento bacteriano e da inibição da adesão dos agentes às microvilosidades intestinais (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Também está referido que dar banho no último dia de tratamento poderá ser benéfico como terapia adjuvante (Tangtrongsup & Scorza, 2010; Villeneuve, 2009), ao promover a remoção dos quistos de *Giardia* presentes no pêlo do animal (Villeneuve, 2009).

Apesar da utilização de fármacos poder ser bastante eficaz na eliminação da giardiose, a reinfeção ocorrerá naturalmente se as fontes de contaminação ambiental não forem eliminadas e a frequência de transmissão for alta. Isto aplica-se a infecções no homem e nos animais, particularmente em focos endémicos localizados, tais como comunidades e instituições, onde a higiene seja inadequada ou facilmente comprometida, explorações leiteiras, canis e gatis (Thompson, 2004).

O controlo das infecções por *Giardia* envolve a prevenção da contaminação da comida e água por matéria fecal, um bom saneamento e uma desinfecção do ambiente com lisol (2% a 5%) ou hipoclorito de sódio (1%) (Bowman, 2009).

As infecções por *Giardia* estimulam a imunidade humoral, o que resulta em infecções auto-limitantes em muitas espécies animais. Infelizmente pode levar vários meses até que o hospedeiro seja capaz de produzir anticorpos protectores que possam eliminar o parasita (Thompson, 2004). Nos EUA esteve disponível uma vacina para *Giardia*, produzida a partir de trofozoítos isolados a partir de ovelhas para combater a infecção em cães e gatos (Thompson *et al.*, 2008), contudo esta opção profilática já não se encontra disponível comercialmente (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

3.2.1.8 Impacto Zoonótico

G. duodenalis apresenta uma distribuição global e é o parasita intestinal mais comum no homem em países desenvolvidos. Na Ásia, África e América Latina cerca de 200 milhões de pessoas têm giardiose sintomática, com cerca de 500 000 novos casos declarados todos os anos (Thompson, 2000).

No Canadá, Japão, EUA e Nova Zelândia a giardiose humana é uma doença de notificação obrigatória. Na Bélgica e Espanha a notificação é voluntária, enquanto em Inglaterra e no País de Gales a notificação é necessária apenas em casos de intoxicação alimentar (Ballweber *et al.*, 2010).

A giardiose humana apresenta manifestações clínicas bastante diversas, variando entre uma diarreia não-sanguinolenta crónica, intermitente ou aguda até à completa falta de sintomatologia (paciente assintomático). Outros sintomas que poderão surgir são náuseas, cólica abdominal, vômito, esteatorreia, anorexia e perda de peso. Em áreas endémicas, as infecções assintomáticas são comuns em crianças e adultos (Ballweber *et al.*, 2010). Ainda muito pouco se sabe sobre a epidemiologia de *Giardia*, sobretudo no que se relaciona com o possível papel que outros mamíferos possuem na infecção do homem (Bowman, 2009).

Estudos epidemiológicos moleculares poderão ajudar a clarificar o potencial zoonótico que os cães possuem relativamente à infecção por *Giardia*. Desde 1998 que estes estudos têm indicado que os cães são na sua maioria (mas não exclusivamente) infectados com *assemblages* específicas da sua espécie (Ballweber *et al.*, 2010).

Entretanto, o homem é infectado pelas *assemblages* A II ou B, e segundo dados recentes, também com a *assemblage* A I. Contudo, não existem registos de infecções com as *assemblages* específicas do cão (*assemblage* C e D). O papel potencialmente zoonótico dos cães chega de estudos recentes de genotipagem que descrevem a *assemblage* A e B em cães. Além do mais, a *assemblage* A II que era considerada específica do homem, foi igualmente descrita nestes estudos (Ballweber *et al.*, 2010). Contudo, quando se considera o potencial zoonótico, este tipo de achado que identifica genótipos similares a infectar espécies de hospedeiros diferentes, não serve por si só como evidência que a transmissão zoonótica está a ocorrer (Thompson, 2000).

Os estudos ideais para determinar conclusivamente o papel dos cães na transmissão de *Giardia* aos humanos (e vice versa), serão estudos longitudinais que façam a genotipagem em múltiplos *loci* em todas as amostras positivas em cães e pessoas a viver no mesmo ambiente. Alternativamente, estudos de caso-controlo transversais são uma segunda opção (apesar de não serem conclusivos). Estes estudos poderão providenciar informação mais robusta sobre as *assemblages* de *Giardia* que infectam pessoas e animais domésticos no mesmo ambiente espacial e temporal (Ballweber *et al.*, 2010).

Exemplos destes estudos foram revistos por Xiao e Fayer (2008) e por Bowman e Lucio-Forster (2010), os quais descrevem os estudos efectuados em comunidades carenciadas

em vários locais do mundo, nomeadamente Índia (plantadores de chá na região de Assam), Tailândia (monges nos templos em Bangkok), Austrália (população de Aborígenes) e Brasil (centro de acolhimento infantil municipal no Rio de Janeiro), caracterizando-se todos estes locais por baixos níveis higiénicos e onde se verifica um contacto estreito entre as pessoas e os seus animais de companhia. Os resultados obtidos demonstraram genótipos idênticos de *G. duodenalis* nas pessoas e nos cães que partilham a mesma área onde vivem, o que poderá sugerir um possível ciclo de transmissão zoonótico neste tipo de populações (Traub *et al.*, 2004; Volotão *et al.*, 2007; Inpankaew, Traub, Thompson & Sukthana, 2007)

Com base nestes estudos foi sugerido que os genótipos detectados em cães representam as *assemblages* prevalentes em determinados ambientes. Assim, em canis ou ambientes semelhantes, as *assemblages* específicas dos cães podem eliminar por competição outras *assemblages*, ocorrendo o inverso em ambientes onde os cães estejam em ambientes habitualmente contaminados com quistos com origem em fezes humanas ou outros mamíferos (Ballweber *et al.*, 2010; Thompson, 2004).

Podemos então concluir que o potencial zoonótico de *Giardia* não está em causa, contudo não existe informação suficiente sobre a frequência da transmissão zoonótica. O papel dos cães na transmissão zoonótica de *Giardia* está claramente dependente do tipo de interacção existente entre os cães e os seus donos e estudos mais profundos são necessários em diferentes focos endémicos (Thompson, 2004).

III. ESTUDO - Rastreio de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa

1. Objectivos

O presente estudo teve como objectivos a determinação das prevalências dos principais parasitas gastrointestinais presentes em cães abrigados em canis de Lisboa, estimar o risco zoonótico existente para as pessoas que diariamente lidam com estes animais (ou com perspectiva de vir a lidar) e investigar possíveis factores de risco para o parasitismo nestas populações.

2. Materiais e Métodos

2.1 Canis

Entre Setembro e Novembro de 2010, foram recolhidas amostras de fezes de cães alojados em três canis da região da Grande Lisboa, nomeadamente no Canil da União Zoófila (UZ), no Canil da Associação Focinhos e Bigodes (F&B) (Figura 35) e no Canil Municipal de Lisboa (CML).

Figura 35: Canil da Associação F&B. Fonte: Original.



A UZ alberga aproximadamente 600 cães, podendo estes ser provenientes de qualquer ponto do país. O canil divide-se em várias zonas. Os cães estão alojados em boxes, geralmente em número superior a um cão por box, onde a tolerância (ou a falta dela) manifestada entre os animais, é o principal factor considerado quando se juntam cães na mesma box. Existe uma enfermaria onde se encontram internados os animais a necessitar de cuidados veterinários, para os quais existe uma equipa constituída por 3 médicos veterinários que alternam na sua presença diária, incluindo sábados e domingos. Além destes, existem ainda voluntários, padrinhos e famílias de acolhimento temporário (FAT) que

contactam com os animais e ajudam no objectivo principal desta associação sem fins lucrativos, que é a adopção. Os animais são alimentados à base de comida seca, que provém na sua maioria de doações por parte de particulares. A presença de ratos é ocasionalmente observada nas instalações.

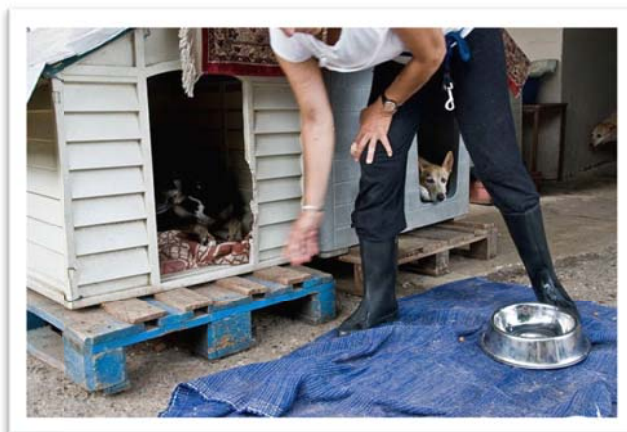
O F&B alberga cerca de 60 animais, a maioria proveniente da região centro de Lisboa. Os cães estão alojados em boxes, na sua grande maioria em número de 2 ou 3. Os cuidados veterinários são prestados voluntariamente por uma médica veterinária. Esta associação conta igualmente com a presença e ajuda de voluntários e de padrinhos. A alimentação é fundamentalmente comida seca, com a introdução pontual de húmidos sob a forma de guloseima e/ou recompensa. Também são observados ocasionalmente ratos nas instalações.

O CML pertence ao Departamento de Higiene Urbana e Resíduos Sólidos, Divisão de Higiene e Controlo Sanitário da Câmara Municipal de Lisboa, abrigando aproximadamente 100 cães. Está dividido em várias zonas, tendo as colheitas neste local sido efectuadas no canil 1 (C1) e no canil 3 (C3). O C3 reserva-se aos cães disponíveis para adopção, estando os cães alojados em boxes com 3, 4 ou 5 animais cada. O C1 está destinado aos cães recolhidos nos últimos dias e que aguardam o seu destino, estando alojados individualmente em pequenas boxes abertas, presos por intermédio de uma corrente à parede. A alimentação dos cães é à base de ração seca. Existem médicos veterinários municipais encarregues dos animais e são funcionários da câmara que tratam dos trabalhos de limpeza e manutenção.

Relativamente aos esquemas de desparasitação dos cães e de limpeza das instalações, os protocolos seguidos são os seguintes:

- UZ: Os cães são desparasitados internamente quando entram nas instalações do canil com um anti-helmíntico de largo espectro (Dolpac®), cujos princípios activos são o pirantel, oxantel e o praziquantel. Depois são desparasitados pontualmente quando observados proglotes ou parasitas adultos nas fezes. Externamente são desparasitados com o Advantix® (imidaclopride e pirmetrina) à entrada. Nova utilização do produto ocorre quando são observados parasitas externos. Na entrega dos animais para adopção, os novos donos são informados de quando deverão efectuar a desparasitação do seu cão. As instalações são lavadas diariamente com detergentes e lixívia de uso comum (Figura 36).

Figura 36: Voluntária da UZ em acções de limpeza. Fonte: Foto gentilmente cedida pela UZ.



- F&B: Os cães são desparasitados internamente quando entram no canil com um produto comercial de largo espectro, da marca Zypiran Plus® (praziquantel, pirantel e febantel). De seguida, são regularmente desparasitados de 4 em 4 meses, uma das quais com Ivomec® (ivermectina). Quando os cães são adoptados, antes de saírem do canil são desparasitados. Para o controlo dos parasitas externos utilizam uma extensa gama de produtos, entre eles, Advantix®, Advocate® (imidaclopride e moxidectina), Program Plus® (milbemicina oxima e lufenurão) Scalibor (deltametrina), Mascote® e Bio Kill® (permetrina). As instalações são lavadas diariamente com detergentes e lixívia de uso comum (Figura 37).

Figura 37: Voluntária do canil F&B em acções de limpeza. Fonte Original.



- CML: os cães são desparasitados à entrada, consoante a idade. Assim, nos jovens é utilizado o Drontal Puppy® (pamoato de pirantel e febantel) e o Vitaminthe® (oxibendazol e niclosamida). Nos adultos é utilizado o Lopatol® (nitroscanato) e o Zypiran Plus®. Depois são novamente desparasitados à saída e pontualmente quando são observados parasitas nas fezes. Em relação à desparasitação externa, são utilizados o Frontline Spray® (fipronil), o Advantix® e o Advantage® (imidaclopride). A limpeza das instalações é efectuada diariamente com recurso a compostos clorados, iodados e quaternários de amónio.

2.2 Amostras

A recolha das amostras de fezes foi efectuada quando se abria a porta da box para a sua limpeza e o cão saía para o exterior, defecando nessa altura. Outras vezes as amostras foram recolhidas durante o passeio dos animais no exterior ou então directamente do chão da box. As recolhas foram adaptadas consoante o esquema de trabalhos de cada canil. No total foram recolhidas 179 amostras, estando a sua distribuição por canil expressa na Tabela 8.

As amostras foram recolhidas com sacos de plástico, identificadas e postas de imediato numa caixa isotérmica refrigerada.

Para cada amostra eram registados os seguintes dados: nome do cão, sexo, idade, raça e outras características caso se justificasse (presença de proglotes ou parasitas adultos na fezes, doenças concomitantes).

Tabela 8: Distribuição por canil do número de amostras recolhidas.

		Frequência	%
Canil	F&B	26	14,5
	CML	53	29,6
	UZ	100	55,9
	Total	179	100,0

Das amostras recolhidas, as que não eram passíveis de relacionar com um só cão, nomeadamente as amostras recolhidas do interior de boxes com dois ou mais animais, a informação registada era apenas relativa ao número de animais na box (2, 3, 4, 5, 6 ou 7). Nestas situações, tentou-se obter uma amostra representativa da box em questão, através da recolha para o mesmo saco de colheita de várias porções das fezes presentes, sendo registada no final como apenas uma amostra e onde se rejeitava a parte que estava em contacto directo com o solo. Amostras ressequidas e secas não eram seleccionadas.

No total das 179 amostras recolhidas, 124 correspondem a um só cão. As restantes 55 amostras estão associadas a mais que um cão (Tabela 9).

Tabela 9: Número de cães por amostra e sua distribuição por canil.

		Canil			Total
		F&B	CML	UZ	
Nº Cães/	1	24	44	56	124
Amostra	2	0	6	16	22
	3	2	2	13	17
	4	0	1	8	9
	5	0	0	2	2
	6	0	0	4	4
	7	0	0	1	1
Total		26	53	100	179

Os dados relativos ao sexo, idade e raça das 124 amostras relativas a um só cão estão discriminados no anexo 4.

2.3 Exames parasitológicos

Após as colheitas no canil, as amostras eram transportadas para o Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. Regra geral, as colheitas eram efectuadas da parte da manhã e ao início da tarde estavam no laboratório, de modo a serem analisadas no mesmo dia da recolha.

Todas as amostras foram analisadas individualmente através da técnica qualitativa de flutuação passiva pelo método de *Willis* com sulfato de zinco, para pesquisa de ovos de nemátodos GI e de possíveis quistos/oocistos de protozoários (Anexo 7). A solução de sulfato de zinco foi escolhida devido à maior especificidade para os quistos de *Giardia* spp. Por cada amostra processada, era congelada uma pequena porção em micro-tubos de *eppendorf* devidamente identificados.

Adicionalmente foram pesquisados quistos de *Giardia* e oocistos de *Cryptosporidium* através de um teste comercial de imunofluorescência directa (IFD) (Crypto/Giardia Cel IF Test; Cellabs) (Anexo 8). Para este teste foram seleccionadas amostras de fezes aleatoriamente (mas de um modo proporcional entre os três canis) de 54 dos 179 micro-tubos de *eppendorf* congelados. As amostras positivas foram posteriormente enviadas para o Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra para genotipagem através de PCR, aguardando-se pelos resultados.

Destas 54 amostras seleccionadas para IFD, 34 estão associadas a um só cão e os dados relativos ao sexo, idade e raça destas mesmas estão expostos no anexo 5.

2.4 Análise de dados

Foram utilizados os testes qui-quadrado (QQ) e o teste exacto de Fischer para:

- Investigar associações entre a presença de parasitas e as variáveis sexo, idade (jovem ≤ 12 meses; adulto > 12 meses a < 7 anos; idoso ≥ 7 anos) e raça (pura/cruzada ou indeterminada).
- Avaliar as diferenças de prevalências entre canis.

Todos os testes estatísticos foram realizados com base num nível de significância de 5%, recorrendo ao *software* SPSS®17 para o processamento de dados.

3. Resultados

Os ovos de parasitas detectados pelo método de flutuação foram classificados e registados sempre que possível recorrendo à espécie. Foi o caso de *T. canis* (Anexo 6 – Figura 38, *Imagem esquerda*), *T. leonina* (Anexo 6 – Figura 38, *Imagem direita*), *T. vulpis* (Anexo 6 – Figura 39) e *D. caninum* (Anexo 6 – Figura 40). Um dos parasitas apenas foi possível identificar o género (*Cystoisospora* spp) (Anexo 6 – Figura 41). Em relação a dois parasitas, apenas foi possível registar o grau da Família, mais concretamente na família Taeniidae e na família Ancylostomatidae (Anexo 6 – Figura 42). Por fim, sempre que eram detectadas larvas de nemátodos nas amostras, estas eram registadas como L1 (Anexo 6 – Figura 43 e 44). Relativamente a este último, as larvas de nemátodos encontradas em fezes frescas de cães podem pertencer à espécie *Strongyloides stercoralis* ou a um dos seguintes metastrongilídeos: *Filaroides osleri*, *Filaroides hirthi*, *Crenosoma vulpis* ou *Angiostrongylus vasorum* (Bowman, 2009). Visto que entre estes, apenas *Strongyloides stercoralis* é um parasita GI, os resultados classificados como L1, serão abordados de uma forma mais superficial.

Devido às já referidas particularidades das amostras, os resultados das suas prevalências serão primeiramente apresentados e discutidas no referente à totalidade das amostras e que estão portanto associadas a um ou mais cães (amostras individuais e colectivas) e depois serão apresentadas e discutidas apenas as amostras associadas com um só cão (amostras individuais).

3.1 Amostras individuais e colectivas

3.1.1 Valores de prevalências determinados pelo método de flutuação

Do total das 179 amostras analisadas pelo método de flutuação, os parasitas com maior prevalência registada foram *Cystoisospora* spp com 10,1% (18/179) e os membros da

família Ancylostomatidae com 9,5% (17/179). Os restantes grupos de parasitas obtidos registaram valores inferiores a 5% (Tabela 10).

Em termos de prevalências por canil, vemos que a UZ segue o padrão referido em cima para o total das amostras, visto que o parasita mais prevalente é *Cystoisospora* spp com 15% (15/100), logo seguido pela família Ancylostomatidae com 11% (11/100).

O F&B não apresentou qualquer resultado positivo através do método de flutuação.

Por fim, o CML apresenta como parasitas mais prevalentes os membros da família Ancylostomatidae com 11,3% (6/53), seguindo-se os membros do género *Cystoisospora* com 5,7% (3/53) (Tabela 10).

Tabela 10: Prevalência de parasitas no total das amostras (método de flutuação).

Canil/ Parasita	UZ <i>n</i> =100 <i>n</i> º positivos % (IC 95%)	F&B <i>n</i> =26 <i>n</i> º positivos % (IC 95%)	CML <i>n</i> =53 <i>n</i> º positivos % (IC 95%)	Total <i>n</i> =179 <i>n</i> º positivos % (IC 95%)
Ancylostomatidae	11 11% (4,8-17,2%)	0	6 11,3% (2,6-20%)	17 9,5% (5,2-13,8%)
<i>T. canis</i>	5 5% (0,7-9,3%)	0	0	5 2,8%(0,4-5,2%)
<i>T. leonina</i>	6 6% (1,3-10,7%)	0	2 3,8% (0-9,1%)	8 4,5% (1,4-7,6%)
<i>Cystoisospora</i>	15 15% (7,9-22,1%)	0	3 5,7% (0-12,1%)	18 10,1% (5,7-14,5%)
<i>D. caninum</i>	0	0	2 3,8% (0-9,1%)	2 1,1% (0-2,6%)
Taeniidae	1 1% (0-3%)	0	0	1 0,6% (0-1,7%)
<i>T. vulpis</i>	2 2% (0-4,8%)	0	0	2 1,1% (0-2,6%)
L1	2 2% (0-4,8%)	0	0	2 1,1% (0-2,6%)
Total Global*	34 34% (24,6-43,4%)	0	10 18,9% (8,1-29,7%)	44 24,6% (18,2-31%)

* - Número total de amostras que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

3.1.2 Valores de prevalências determinados pela técnica de IFD

Como referido anteriormente, a técnica de imunofluorescência directa foi feita em 54 amostras seleccionadas de um modo proporcional mas aleatório entre os 3 canis. Os resultados obtidos estão expressos na tabela 11. Assim, a prevalência total do género *Giardia* foi de 61,1% (33/54) e a prevalência total do género *Cryptosporidium* foi de 14,8% (8/54).

Relativamente às prevalências por canil, a UZ obteve a prevalência mais elevada para *Giardia* com 65% (19/29), enquanto a prevalência mais elevada registada para *Cryptosporidium* foi obtida no F&B com 33,3% (3/9) (Tabela 11).

Tabela 11: Prevalência de parasitas no total das amostras (IFD).

Parasita/Canil	UZ n=29 nº positivos % (IC 95%)	F&B n=9 nº positivos % (IC 95%)	CML n=16 nº positivos % (IC 95%)	Total n=54 nº positivos % (IC 95%)
<i>Giardia</i>	19 65,5% (47,4-83,6%)	5 55,6% (17,4-93,8%)	9 56,3% (29,9-82,7%)	33 61,1% (47,8-74,4%)
<i>Cryptosporidium</i>	4 13,8% (0,7-26,9%)	3 33,3% (0-69,5%)	1 6,3% (0-19,2%)	8 14,8% (5,1-24,5%)
Total Global*	19 65% (46,9-83,1%)	6 66,7% (30,5-100%)	10 62,5% (36,7-88,3%)	35 64,8% (51,8-77,8%)

* - Número total de amostras que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

3.1.3 Risco de infecção por canil

○ Método de Flutuação

Os dados não evidenciaram associação entre canil e o total global de parasitas ($X^2=3,168$; g.l.=1; $p=0,075$). Do mesmo modo, os dados não evidenciaram qualquer tipo de associação significativa entre canil e a presença específica de parasitas (Ancylostomatidae, *T. canis*, *T. leonina*, *Cystoisospora*, *T. vulpis*, Taeniidae, L1 ou *D. caninum*). Na realização do teste QQ não foi incluído o canil F&B, por este não ter apresentado qualquer resultado positivo na pesquisa de parasitas GI através do método de flutuação.

○ Técnica de IFD

Não foi detectada qualquer associação significativa entre canis e a presença de parasitas através da pesquisa pela técnica de IFD ($X^2=0,057$, g.l.=2, $p=0,972$), assim como entre canis e a presença de *Giardia* ($X^2=0,513$; g.l.=2; $p=0,774$) ou de *Cryptosporidium* (o teste QQ não pôde ser aplicado neste caso).

3.2 Amostras individuais

3.2.1 Valores de prevalências determinados pelo método de flutuação e pela técnica de IFD

Quando analisamos as prevalências relativas às amostras associadas com um só cão (n=124), o parasita mais prevalente continua a ser *Cystoisospora* com 12,1%, seguido por

Ancylostomatidae com 9,7%. No total global, temos uma prevalência de 23,4% dos cães parasitados com pelo menos um dos parasitas (Tabela 12).

Analisando os dados por canil, observamos que o parasita mais frequente nos cães da UZ é *Cystoisospora* spp com uma prevalência de 23,2%, enquanto no CML surge *Ancylostomatidae* (13,6%) como parasita mais frequente. O F&B como referido anteriormente não apresentou qualquer resultado positivo na pesquisa de parasitas pelo método de flutuação (Tabela 12).

Tabela 12: Prevalência de parasitas (método de flutuação).

Canil/ Parasita	UZ <i>n</i> =56 nº positivos % (IC 95%)	F&B <i>n</i> =24 nº positivos % (IC 95%)	CML <i>n</i> =44 nº positivos % (IC 95%)	Total <i>n</i> =124 nº positivos % (IC 95%)
Ancylostomatidae	6 10,7% (2,4-19%)	0	6 13,6% (3,2-24%)	12 9,7% (4,4-15%)
<i>T. canis</i>	2 3,6% (0-8,6%)	0	0	2 1,6% (0-3,8%)
<i>T. leonina</i>	1 1,8% (3,2-20,4%)	0	1 2,3% (0-6,9%)	2 1,6% (0-3,8%)
<i>Cystoisospora</i>	13 23,2% (11,9-34,5%)	0	2 4,5% (0-10,8%)	15 12,1% (6,3-17,9%)
<i>D. caninum</i>	0	0	1 0,8% (0-3,5%)	1 0,8% (0-2,4%)
Taeniidae	0	0	0	0
<i>T. vulpis</i>	2 2,3% (11,7-34,3%)	0	0	2 1,6% (0-3,8%)
L1	1 1,8% (0-5,4%)	0	0	1 0,8% (0-2,4%)
Total Global*	21 37,5% (24,5-50,5%)	0	8 18,2% (6,5-29,9%)	29 23,4% (15,9-30,9%)

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita

Em relação às prevalências de *Giardia* e *Cryptosporidium* (*n*=34) estas foram 55,9% e 17,6% respectivamente (Tabela 13), quando analisados os valores totais. Em termos de prevalências por canil, a UZ surge com o maior valor para *Giardia* (61,5%), enquanto o F&B atinge o valor mais elevado no caso de *Cryptosporidium* (37,5%) (Tabela 13).

Tabela 13: Prevalência de parasitas (IFD).

Parasita/Canil	UZ <i>n</i> =13 nº positivos % (IC95%)	F&B <i>n</i> =8 nº positivos % (IC95%)	CML <i>n</i> =13 nº positivos % (IC95%)	Total <i>n</i> =34 nº positivos % (IC95%)
<i>Giardia</i>	8 61,5% (32,1-90,9%)	4 50% (8,2-91,8%)	7 53,8% (23,7-83,9%)	19 55,9% (38,6-73,2%)
<i>Cryptosporidium</i>	2 15,4% (0-37,2%)	3 37,5% (0-78%)	1 7,7% (0-23,8%)	6 17,6%(4,3-30,9%)
Total Global*	8 61,5% (32,1-90,9%)	5 62,5% (22-100%)	8 61,5% (32,1-90,1%)	21 61,8% (44,8-78,8%)

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita

3.2.2 Prevalências por sexo dos cães

Observando as prevalências de acordo com a distribuição do sexo nas amostras positivas para Ancylostomatidae e *Cystoisospora*, os dois grupos de parasitas mais prevalentes obtidos através do método de flutuação, verificamos que no total de 12 amostras positivas para Ancylostomatidae, 6 são de machos e 6 são de fêmeas. Já no caso de *Cystoisospora* a proporção é ligeiramente diferente, com 10 machos e 5 fêmeas. No total global dos cães parasitados, 16 são machos e 13 são fêmeas (Tabela 14).

Tabela 14: Prevalências por sexo (método de flutuação).

Parasita/Sexo	Machos	Fêmeas	Total
	nº positivos %	nº positivos %	nº positivos %
Ancylostomatidae	6 50%	6 50%	12 100%
<i>T. canis</i>	1 50%	1 50%	2 100%
<i>T. leonina</i>	1 50%	1 50%	2 100%
<i>Cystoisospora</i>	10 66,7%	5 33,3%	15 100%
<i>T. vulpis</i>	0	2 100%	2 100%
Taeniidae	0	0	0 100%
L1	0	1 100%	1 100%
<i>D. caninum</i>	1 100%	0	1 100%
Total Global*	16 55,2%	13 44,8%	29 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

No caso dos parasitas detectados por IFD, o número de machos (11) e fêmeas (10) infectados com *Giardia* ou *Cryptosporidium* é muito semelhante. No que diz respeito unicamente à infecção por *Giardia*, existe mais um macho infectado (10) comparativamente com o número total de fêmeas infectadas (9) com este parasita. Em relação ao género *Cryptosporidium* do total de 6 animais infectados, 4 são fêmeas e 2 são machos. (Tabela 15). Não foi encontrada nenhuma associação significativa entre a presença de parasitas e o sexo dos animais infectados, quer através do método de flutuação, quer pela técnica de IFD.

Tabela 15: Prevalências por sexo (IFD).

Parasita/Sexo	Machos	Fêmeas	Total
	nº positivos %	nº positivos %	nº positivos %
<i>Giardia</i>	10 52,6%	9 47,4	19 100%
<i>Cryptosporidium</i>	2 33,3%	4 66,7%	6 100%
Total Global*	11 52,4%	10 47,6%	21 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

3.2.3 Prevalências por idade dos cães

Podemos verificar por análise da tabela 16 que do total global de 29 animais parasitados com pelo menos um dos parasitas detectados por flutuação, a grande maioria são animais adultos (17/29), enquanto os restantes dividem-se pelos idosos (7/29) e jovens (5/29). No caso de *Ancylostomatidae*, dos 12 animais positivos, 10 são adultos, enquanto no caso de *Cystoisospora*, os 15 animais já se encontram distribuídos de um modo mais uniforme pelas diferentes faixas etárias (Tabela 16).

Tabela 16: Prevalências por idade (método de flutuação).

Parasita/Idade	Jovem nº positivos %	Adulto nº positivos %	Idoso nº positivos %	Total nº positivos %
Ancylostomatidae	0	10 83,3%	2 16,7%	12 100%
<i>T. canis</i>	0	2 100%	0	2 100%
<i>T. leonina</i>	0	1 50%	1 50%	2 100%
<i>Cystoisospora</i>	5 33,3%	6 40%	4 26,7%	15 100%
<i>T. vulpis</i>	0	2 100%	0	2 100%
<i>Taeniidae</i>	0	0	0	0 100%
L1	0	0	1 100%	1 100%
<i>D. caninum</i>	0	1 100%	0	1 100%
Total Global*	5 17,2%	17 58,6%	7 24,1%	29 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita

Relativamente ao método de IFD, observamos uma vez mais que a grande maioria dos 21 animais parasitados são adultos (16), surgindo depois 2 jovens e 3 idosos. (Tabela 17). O número de casos não permitiu investigar possíveis associações entre a presença de parasitas (flutuação e IFD) e a idade dos cães.

Tabela 17: Prevalências por idade (IFD).

Parasita/Idade	Jovem	Adulto	Idoso	Total
	nº positivos	nº positivos	nº positivos	nº positivos
	%	%	%	%
Giardia	2 10,5%	14 73,7%	3 15,8%	19 100%
Cryptosporidium	1 16,7%	3 50%	2 33,3%	6 100%
Total Global*	2 9,5%	16 76,2%	3 14,3%	21 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

3.2.4 Prevalências por raça dos cães

Do total global dos 29 cães parasitados, a grande maioria (22) surge referenciado como não tendo raça definida. Apenas 7 cães entram na categoria raça pura/cruzada. No caso dos cães infectados com Ancylostomatidae, 10 em 12 cães não têm raça definida, sendo que nos cães infectados com *Cystoisospora*, este valor é de 11 em 15 (Tabela 18).

Tabela 18: Prevalências por Raça (método de flutuação).

Parasita/Raça	Pura/Cruzada	Indeterminada	Total
	nº positivos	nº positivos	nº positivos
	%	%	%
Ancylostomatidae	2 16,7%	10 83,3%	12 100%
T. canis	0	2 100%	2 100%
T. leonina	1 50%	1 50%	2 100%
Cystoisospora	4 26,7%	11 73,3%	15 100%
T. vulpis	0	2 100%	2 100%
Taeniidae	0	0	0 100%
L1	0	1 100%	1 100%
D. caninum	0	1 100%	1 100%
Total Global*	7 24,1%	22 75,9%	29 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

Nos 21 cães com resultados positivos na técnica de IFD, apenas 3 são de raça pura/cruzada, enquanto os restantes 18 estão classificados como de raça indeterminada (Tabela 19). Não foi registada qualquer associação significativa entre a presença de parasitas e a raça dos cães, quer no método de flutuação, quer na técnica de IFD.

Tabela 19: Prevalências por Raça (IFD).

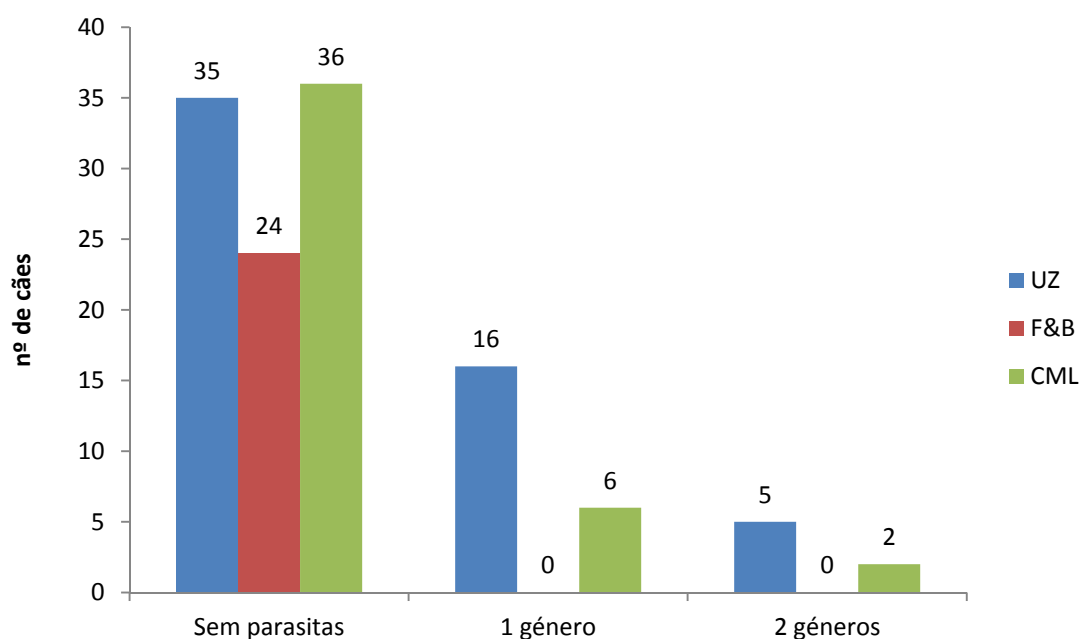
Parasita/Sexo	Pura/Cruzada	Indeterminada	Total
	nº positivos %	nº positivos %	nº positivos %
<i>Giardia</i>	2 10,5%	17 89,5%	19 100%
<i>Cryptosporidium</i>	1 16,7%	5 83,3%	6 100%
Total Global*	3 14,3%	18 85,7%	21 100%

* - Número total de cães que revelaram a presença de pelo menos um parasita.

3.2.5 Número de diferentes géneros de parasitas por cão

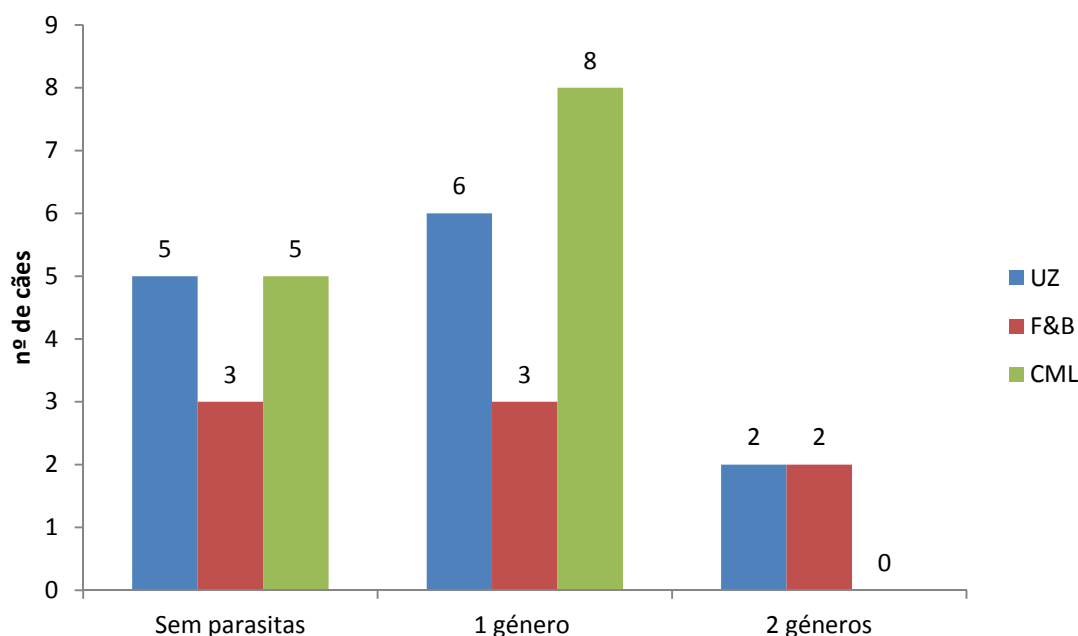
A análise do gráfico 3 permite verificar que através do método de flutuação, a grande maioria dos cães com resultados positivos, surgem infectados com um só género de parasita, contrastando com a menor prevalência dos cães que surgem infectados com 2 géneros de parasitas (Gráfico 3). Nenhum animal surgiu parasitado com mais de 2 géneros de parasitas.

Gráfico 3: Número de diferentes géneros de parasitas por cão (Flutuação).



Já nos cães analisados por IFD, surge uma maior proporção de cães parasitados com 2 géneros de parasitas, apesar de os cães parasitados com um só género de parasita, continuarem a dominar (Gráfico 4).

Gráfico 4: Número de diferentes géneros de parasitas por cão (IFD).



4. Discussão

4.1 Amostras individuais e colectivas

4.1.1 Prevalências por flutuação

Do total das amostras recolhidas (n=179), a prevalência total global de parasitas GI foi de 24,6%, dos quais os mais prevalentes foram *Cystoisospora* spp com 10,1% e Ancylostomatidae com 9,5%. Avaliando os dados por canil, a UZ apresentou uma prevalência total global de 34%, o F&B de 0% e o CML de 18,9%. Devido ao facto de na totalidade destas 179 amostras, 55 amostras estarem associadas a mais que um cão, não podemos fazer comparações directas destes valores com as prevalências que ocorreram noutros estudos realizados em canis. Estes valores contudo, demonstram desde já elevadas prevalências de parasitas GI em dois dos canis em estudo, nomeadamente a UZ (34%) e o CML (18,9%), contrastando com a total ausência de parasitas no F&B (0%). A abordagem mais agressiva com recurso à utilização de anti-helmínticos de 4 em 4 meses por parte do F&B parece ser o principal motivo desta total ausência de parasitas, tendo em conta que os esquemas de limpeza das instalações são bastante semelhantes entre os 3 canis. Por outro lado, o facto de o F&B ter ao seu cuidado um menor número de animais (60) quando comparado com a UZ (600) e o CML (100) também aparenta ser um factor importante, pois quebrar o ciclo de transmissão de parasitas GI dentro de um canil, é sem dúvida mais fácil

quando lidamos com populações mais reduzidas de animais, além de representar um encargo financeiro significativamente inferior no que diz respeito à aquisição de anti-helmínticos.

Tendo em conta que a UZ e o CML seguem esquemas de desparasitação interna semelhantes, uma das possíveis causas para os maiores valores observados na UZ, além do já referido maior número de animais, poderá estar relacionado com o tempo de permanência dos cães nas instalações, já que muitos dos animais alojados na UZ permanecem por lá durante anos até encontrarem dono ou eventualmente morrerem de causas naturais ou por doença, enquanto no CML a maioria dos animais permanecerá nas instalações menos tempo.

Do total das amostras analisadas pelo método de flutuação, 44 amostras estavam parasitadas com pelo menos um dos seguintes parasitas: nemátodos da família Ancylostomatidae, *T. canis*, *T. leonina*, *Cystoisospora* spp, *T. vulpis* *D. caninum*, céstodos da família Taeniidae e L1. Destes, *T. leonina* e *Cystoisospora* não representam qualquer tipo de risco zoonótico para as pessoas que estão em contacto com os cães presentes no canil (funcionários, voluntários, veterinários, visitantes).

Os membros da família Ancylostomatidae representam um risco zoonótico, sendo que dependente da espécie em questão, este risco pode ser mais ou menos preocupante. As espécies com significado na Europa são, segundo o [ESCCAP] (2010), *A. caninum* e *U. stenocephala*, sendo o primeiro encontrado predominantemente na Europa Central e do Sul e o segundo é característico de climas mais frios, sendo reconhecido como o ancilostoma do norte ([ESCCAP], 2010). A SLMC pode ser causada por qualquer espécie de ancilostoma, contudo as migrações provocadas na pele do homem pelas espécies encontradas na Europa, não são tão comuns nem extensas como as efectuadas por *A. braziliense* nos locais onde esta espécie é endémica (Bowman, 2009b; Companion Animal Parasite Council [CAPC], 2009). Estas migrações são geralmente auto-limitantes. No entanto, ocasionalmente as larvas de *A. caninum* podem migrar até ao intestino delgado, local onde produz uma enterite eosinofílica. A larva não se desenvolve até adulto, nem produz ovos, contudo as pessoas infectadas podem sofrer uma intensa dor abdominal e apresentar eosinofilia ([CAPC], 2009).

A espécie *T. canis* apresenta um elevado potencial zoonótico, pois é o agente da síndrome da LMV e LMO no homem, condição esta que pode trazer graves sequelas para as pessoas afectadas. Apesar de entre 179 amostras analisadas, apenas 5 terem dado resultado positivo para a presença de ovos deste parasita (2,8%), não deixa de ser motivo de preocupação, principalmente no canil da UZ, local onde foram detectados todos os resultados positivos de *T. canis*.

Os restantes parasitas com potencial zoonótico detectados neste estudo apresentaram prevalências muito baixas. *T. vulpis* (1,1%) foi detectado em apenas 2 amostras e além do

mais o seu potencial zoonótico ainda está para ser verdadeiramente confirmado, visto que os registos existentes de infecção humana por este parasita não estão devidamente fundamentados ([CAPC], 2010). *D. caninum* (1,1%) tem a capacidade para infectar o homem, especialmente crianças que ingeriram pulgas acidentalmente, contudo os seus efeitos são mínimos ou mesmo nulos (Bowman, 2009b). A sua presença num canil estará sempre dependente da presença de pulgas e piolhos, daí que se o canil adoptar métodos eficazes no controlo destes parasitas externos, a dipilidiose canina será igualmente controlada. Relativamente aos ovos de Taeniidae (0,6%) apenas poderemos fazer suposições relativamente à espécie correspondente aos ovos detectados na única amostra positiva detectada neste estudo. Nestas suposições o pior cenário será sem dúvida aquele em que o cão se infectou dentro das instalações do canil através da predação de um rato infectado com o estágio larvar de *E. multilocularis*, parasita este que representa um risco de elevada gravidade para o homem, pois é o responsável pela equinococose alveolar na nossa espécie. Em canis com problemas de roedores, *E. multilocularis* pode ser perpetuado através de um ciclo cão – roedor – cão (Bowman, 2009b). Contudo, este cenário parece pouco provável, pois *E. multilocularis* não está referenciado em Portugal e o seu hospedeiro definitivo habitual é a raposa. Um cenário mais provável será aquele em que o cão tenha sido infectado antes da entrada no canil, com uma das espécies de *Taenia* spp (*T. serialis*, *T. pisiformis*, *T. multiceps*, *T. ovis*, *T. hydatigena*) ou com *E. granulosus* e que de algum modo a desparasitação interna realizada no dia de entrada do canil não tenha surtido efeito. Os hospedeiros intermediários destas espécies da família Taeniidae (vacas, ovinos e coelhos) tornam improvável a sua perpetuação num canil (Bowman, 2009b). Destes, *E. granulosus* representa um risco grave para o homem, pois a sua forma larvar é o agente da equinococose quística. Não é assim tão improvável que um cão que dê entrada num canil esteja infectado com este parasita devido à alta prevalência que este tem nas ovelhas do nosso país ([ESCCAP], 2010).

Outro facto importante e que não poderá ser dissociado das prevalências obtidas nas amostras diz respeito ao controlo dos hospedeiros paraténicos, nomeadamente ratos.

Dos três canis do estudo, dois deles contam com a presença de ratos, muitas vezes em contacto com os animais. Os parasitas GI que podem enquistar nos tecidos dos ratos são *T. canis*, *T. leonina*, *A. caninum*, *U. stenocephala* e *Cystoisospora* spp, tornando muito difícil um eficaz controlo destes num ambiente de canil em que os cães têm continuamente acesso a ratos, pois após ingerirem as larvas enquistadas nos tecidos dos ratos ou os quistos monozóicos, os parasitas continuam o seu ciclo de vida no interior do hospedeiro definitivo. No caso específico dos ascarídeos, Bowman (2009) refere que um programa de controlo de roedores poderá ser bastante importante para o controlo de *T. canis* e *T. leonina*, podendo nós extrapolar que o mesmo se verifica para os restantes parasitas que utilizam os ratos como hospedeiros paraténicos.

Na técnica de flutuação e como referido, foi utilizado sulfato de zinco devido à maior especificidade deste para detectar quistos de *Giardia*. Contudo, como verificado, não foram detectados quaisquer resultados positivos para este parasita através desta técnica. A primeira explicação lógica seria que este parasita não estaria presente nas populações-alvo deste estudo, o que iria totalmente contra o descrito na bibliografia (Ballweber *et al*, 2010; Tangtrongsup & Scorza, 2010), que refere que os animais de canil têm prevalências elevadas deste protozoário.

No entanto, após a pesquisa deste protozoário por IFD, uma técnica considerada por muitos como sendo o padrão de referência na detecção do organismo nas fezes do cão (Tangtrongsup & Scorza, 2010), a sua presença foi confirmada.

Assim, outros cenários para a não detecção deste parasita pelo método de flutuação terão que ser propostos. Uma das possibilidades será o facto de neste estudo a flutuação ter sido passiva e não com recurso a centrifugação, como sugerido pelo [CAPC] (2010b), de forma a aumentar a sensibilidade da pesquisa dos quistos. Além do mais, também está indicado pela mesma fonte que após a preparação das lâminas para observação ao microscópio óptico, a pesquisa deva ser feita nos 15-20 minutos que se seguem, de forma a não ocorrer colapso dos quistos, tornando impossível a sua identificação. Neste estudo esse tempo foi largamente excedido, devido ao grande número de amostras que tinham que ser processadas por uma só pessoa.

Por fim, outra possível causa a não descartar, prende-se com as dificuldades de identificação destes quistos, o que poderá ter contribuído para a não detecção de *Giardia* através do método de flutuação.

4.1.2 Prevalências por IFD

As prevalências obtidas através da técnica de IFD no total das 54 amostras utilizadas apresentaram valores bastante elevados, quer para *Giardia* (61,1%), quer para *Cryptosporidium* (14,8%). Uma vez mais, visto que nestas prevalências entraram 20 amostras associadas a mais que um cão, não podemos para já fazer comparações directas com os valores obtidos noutros locais, apesar de como verificámos na apresentação dos resultados, os valores não são muito discordantes dos verificados quando analisadas apenas as amostras associadas a um cão. Esses valores serão discutidos mais à frente.

No total global, 35 amostras (64,8%) estavam parasitadas com pelo menos um dos parasitas. Segundo Thompson (2000), o facto de os protozoários entéricos não serem afectados pela maioria dos protocolos anti-helmínticos normalmente utilizados, pode contribuir para os seus elevados valores. Segundo o [CAPC] (2010b), uma combinação de pirantel, febantel e praziquantel (Drontal®Plus) administrado durante 3 dias, seguindo a dose indicada no rótulo, é eficaz no tratamento de *Giardia*.

Tudo aponta para que a contaminação ambiental também seja responsável pelas elevadas prevalências obtidas nos três canis. Os quistos de *Giardia* e os oocistos de *Cryptosporidium* são imediatamente infecciosos quando excretados nas fezes, não necessitando de um período de maturação no exterior (Plutzer *et al*, 2010; Lappin & Spindel, 2009). De acordo com Thompson (2004), a infecção ou reinfecção irá ocorrer se as fontes de contaminação ambiental não forem eliminadas e a frequência de transmissão for alta, o que de acordo ainda com o mesmo Autor, parece ser o caso de locais onde a higiene seja difícil de manter em níveis aceitáveis, como os canis. No caso de *Giardia*, a desinfecção com sucesso das superfícies do canil pode ser conseguida através do uso de compostos de amónio quaternário (Lappin & Spindel, 2009; Tangtrongsup & Scorza, 2010), devendo as superfícies estar completamente secas antes da introdução do animal no local ([CAPC], 2010b). Relativamente ao género *Cryptosporidium*, os oocistos deste protozoário são muito resistentes até temperaturas de 60°C e aos desinfectantes de uso comum como a lixívia, devendo ser utilizadas soluções concentradas de amónia (50%) durante um período mínimo de 30 minutos (Scorza & Tangtrongsup, 2010). Segundo Lappin & Spindel (2009), a maneira mais eficaz para inactivar os oocistos de *Cryptosporidium* é através da limpeza a vapor.

É de realçar que os pavimentos dos canis muitas vezes têm fissuras e ranhuras que podem reter quistos de protozoários mesmo depois da limpeza (Meireles, Montiani-Ferreira & Thomaz-Socol, 2008), devendo estas zonas ser alvo de uma atenção redobrada.

Em circunstâncias normais, as infecções por *Giardia* e *Cryptosporidium* não aparentam ser partilhadas entre cães e pessoas. Os cães possuem o seu grupo de organismos dentro dos géneros *Giardia* (*assemblages* C e D) e *Cryptosporidium* (*Cr. canis*), enquanto o homem tem o seu próprio grupo antroponótico (*assemblages* A e B; *Cryptosporidium hominis*). O risco de um ser-humano contrair uma infecção por estes dois protozoários a partir dos cães é muito baixo, quando comparada com outras fontes mais problemáticas (água potável, fraldas, certos comportamentos sexuais, piscinas, viagens para locais com baixos níveis de higiene), excepto contudo se a pessoa estiver perante uma situação de imunossupressão grave (Bowman & Lucio-Forster, 2010).

Apesar de o potencial zoonótico de *Giardia* e *Cryptosporidium* aparentar ser mínimo, ele ainda não foi conclusivamente afastado pela comunidade científica e as elevadas prevalências obtidas para estes dois organismos nos três canis envolvidos no estudo, requerem alguma reflexão. Contudo para ter uma ideia precisa relativamente ao verdadeiro risco de transmissão zoonótica existente na UZ, F&B e CML, será necessário o isolamento genotípico por PCR (Lappin & Spindel, 2009; Scorza & Tangtrongsup, 2010) das amostras positivas, de modo a ter acesso às *assemblages* de *Giardia* e espécies de *Cryptosporidium* que circulam no canil.

Covacin, Aucoin, Elliot e Thompson (2010) obtiveram no seu estudo 126 amostras positivas para *Giardia* provenientes de cães presentes à consulta em clínicas veterinárias nos EUA,

das quais 15% pertenciam à *assemblage* C, 16% à *assemblage* D, 28% à *assemblage* A e 41% à *assemblage* B. A técnica de PCR foi realizada em 3 *loci* (glutamato desidrogenase, 18S e β -giardina). Os Autores sugerem que algumas infecções são mais comumente adquiridas em cachorros (*assemblages* C e D), enquanto outras infecções poderão apresentar maiores prevalências numa etapa mais tardia da vida dos cães, após contacto com novas fontes potencialmente infecciosas.

Palmer *et al.* (2008) no seu trabalho realizado na Austrália em 88 amostras de fezes positivas para *Giardia* provenientes de cães presentes à consulta em clínicas veterinárias e de cães abrigados em canis, obtiveram uma reduzida prevalência de *assemblage* A (1,1%), quando comparada com os valores para as *assemblages* C (46,6%), D (50%) e C/D (2,2%).

No estudo de Leonhard, Pfister, Beelitz, Wielinga e Thompson (2007) realizado no sul da Alemanha, após a amplificação de 55 amostras positivas para *Giardia* no locus 18S, os resultados mostraram que a *assemblage* A (60%) é mais comum que as *assemblages* C (9,1%) e D (3,6%), obtendo-se também amostras positivas para infecções mistas por A/C (27,3%). A *assemblage* A foi mais comum nos dois tipos de populações analisadas (cães presentes à clinica e cães abrigados em canis).

No estudo de Upjohn *et al.* (2010) realizado num canil de Londres, em 878 amostras fecais analisadas por ELISA, 87 foram positivas para *Giardia* (9,9%). Destas, obteve-se uma maior prevalência das *assemblages* específicas dos cães (C e D).

Numa recente revisão dos estudos realizados sobre as espécies de *Cryptosporidium* que infectam os cães verifica-se que estes são maioritariamente infectados por *Cryptosporidium canis*. Contudo existem igualmente registos de infecções caninas por *Cryptosporidium muris* e por *Cryptosporidium parvum* (Lucio-Forster *et al.*, 2010).

Segundo Bowman e Lucio-Forster (2010) a questão mais importante que os veterinários enfrentam relativamente à presença de *Giardia* e *Cryptosporidium* nos cães, não se prende com a possibilidade de transmissão às pessoas (que como já referido e segundo os mesmos Autores, é reduzida), mas sim com a decisão de tratar ou não animais assintomáticos que estejam a excretar quistos e oocistos nas fezes e assim a contaminar o ambiente e outros cães. Thompson (2004) e Traub (2008) referem que os cães infectados com *Giardia* devem ser tratados, quer estejam presentes sinais clínicos ou não. O tratamento justifica-se, e ainda segundo os mesmos, não só devido ao potencial zoonótico que apesar de tudo este organismo aparenta possuir, mas também devido à possibilidade de actuarem como fonte de infecção para outros animais. Villeneuve (2009) vai um pouco mais longe e sugere o tratamento preventivo de todos os cães com menos de um ano de idade e dos cães recentemente adoptados. Outros Autores partilham de opinião diferente, nomeadamente Tangtrongsup e Scorza (2010) que referem que o tratamento de cães assintomáticos é controverso devido a várias razões, entre elas, os efeitos secundários que alguns fármacos utilizados possuem. Acrescentam também que é pouco provável que o

tratamento elimine a infecção e que a reinfecção pode ocorrer em dias devendo a decisão do tratamento ser decidida entre o veterinário e o dono.

4.2 Amostras individuais

4.2.1 Prevalências por flutuação

Analisando apenas as amostras associadas a um só cão, que no total dos 3 canis equivalem a 124 amostras, verificamos que o parasita mais prevalente é *Cystoisospora* com 15 animais infectados (12,1%), seguido pela família Ancylostomatidae com 12 animais infectados (9,7%). Os restantes parasitas surgiram em menor número de cães infectados, nomeadamente, 2 [*T.canis* (1,6%), *T. leonina* (1,6%) e *T. vulpis* (1,6%)] e 1 [*D. caninum* (0,8%) e L1 (0,8%)]. No total, 29 cães (23,4%) estavam parasitados com pelo menos um destes parasita.

A prevalência de 12,1% obtida neste estudo para *Cystoisospora* encontra valores semelhantes obtidos noutros estudos feitos em canis (anexo 1), tais como no estudo de Dubná *et al.* (2007), que obteve uma prevalência de 10,4%, sendo também o parasita mais prevalente, à semelhança do que se verificou no nosso estudo. Nesse mesmo estudo, os Autores analisaram os parasitas GI em dois períodos, nomeadamente à entrada dos cães no canil e algumas semanas após a sua permanência. No caso de *Cystoisospora*, verificaram que ocorreu um aumento de 4 vezes na prevalência, passando de 2,6% para 10,4%. Outros parasitas como *Giardia* e *Cryptosporidium* também apresentaram um aumento das suas prevalências. Os Autores justificam este facto como sendo devido à alta concentração de cães, às condições higio-sanitárias verificadas nos canis e à permanente possibilidade de reinfecção.

Noutro estudo feito por Moreno *et al.* (2007), as prevalências para *Cystoisospora* foram igualmente elevadas, tendo esse estudo a particularidade de os Autores apresentarem valores para *Cystoisospora canis* (22%) e *Cystoisospora* spp (10,22%).

Em outros estudos realizados em canis, as prevalências de *Cystoisospora* foram mais baixas, nomeadamente 6,7% (Bridge & Whitney, 2009), 4,8% (Blagburn *et al.*, 1996, citado em Little *et al.*, 2009) e 1,4% (Palmer *et al.*, 2008).

O género *Cystoisospora* foi o parasita mais prevalente do canil UZ ($n=54$), com 13 animais parasitados (23,2%).

A família Ancylostomatidae surgiu com 12 animais parasitados (9,7%). Comparando este valor com os valores obtidos em outros estudos realizados em canis, verificamos que dos estudos indicados no anexo 1, apenas um apresenta valores mais baixos (0,8%, Dubná *et al.*, 2007), sendo que todos os outros surgiram com valores mais elevados, nomeadamente 20,2% (Blagburn *et al.*, 1996, citado em Little *et al.*, 2009), 20% (Bridge & Whitney, 2009), 33,2% (*U. stenocephala*, Moreno *et al.* 2007) e 10,7% (Palmer *et al.*, 2008).

Contrariamente ao verificado no canil UZ, este parasita foi o mais prevalente do canil CML ($n=44$), com 6 animais parasitados (13,6%).

A espécie *T. canis*, um parasita de extrema importância devido ao risco zoonótico já mencionado anteriormente, surge com uma prevalência relativamente baixa no nosso estudo (1,6%) quando comparado com outros canis. No estudo de Dubná *et al.* (2007), a prevalência foi de 5%, enquanto em Espanha, os valores foram muito superiores, apresentando uma prevalência de 18% (Moreno *et al.* 2007). Palmer *et al.* (2008) descrevem uma prevalência de 2,4% em canis australianos.

Além de *T. canis*, também *T. leonina* surgiu no nosso estudo e curiosamente com uma prevalência de 1,6%, o que vai contra o verificado noutros estudos, em que *T. canis* foi sempre o ascarídeo mais prevalente (Dubná *et al.*, 2007; Moreno *et al.*, 2007; Palmer *et al.*, 2008).

As prevalências de *T. vulpis* e *D. caninum* foram muito reduzidas neste estudo, surgindo com valores de 1,6% (2 cães infectados) e 0,8% (1 cão infectado), respectivamente.

Com a excepção do trabalho de Blagburn *et al* (1996) (citado em Little *et al.*, 2009), onde a prevalência para *T. vulpis* foi de 14,3%, os restantes trabalhos feitos em canis apresentaram prevalências semelhantes às obtidas no nosso estudo, nomeadamente 1,7% (Moreno *et al.*, 2007) e 3,1% (Palmer *et al.*, 2008). O estudo de Dubná *et al.*, (2007) e de Bridge e Whitney (2009) não detectaram nenhum animal infectado com *T. vulpis*.

Em relação a *D. caninum* a situação é semelhante, sendo que apenas o trabalho de Moreno *et al.*, (2007) apresenta uma prevalência significativa deste parasita (13,2%), todos os outros trabalhos feitos em canis apresentaram valores semelhantes ao nosso estudo, nomeadamente 1% (Bugg, Robertson, Elliot & Thompson, 1999), 0,5% (Dubná *et al.*, 2007), 0,3% (Palmer *et al.*, 2008). Dois trabalhos não apresentam registo para a presença deste parasita (Blagburn *et al.*, 1996, citado em Little *et al.*, 2009; Bridge & Whitney, 2009).

4.2.2 Prevalências por IFD

Relativamente às prevalências de *Giardia* e *Cryptosporidium* nas amostras associadas com um só cão ($n=34$), os resultados obtidos foram bastante superiores quando comparados com os obtidos através do método de flutuação nas amostras associadas a um só cão.

O total global foi de 21 animais infectados (61,8%), enquanto os animais infectados com *Giardia* foram superiores aos infectados por *Cryptosporidium*, 19 (55,9%) contra 6 (17,6%), respectivamente.

Comparando estes resultados com estudos feitos em canis para pesquisa exclusiva destes protozoários (Anexo 2), verificamos que outros estudos obtiveram valores tão elevados como o nosso relativamente à prevalência de *Giardia*, nomeadamente, 55,2% (Papini *et al.*, 2005), 45,7% (Huber *et al.*, 2005) e 34,4% (Epe *et al.*, 2010).

No que diz respeito à prevalência de *Cryptosporidium*, apenas 2 dos estudos presentes no anexo 2 fizeram pesquisa para este organismo através de métodos de flutuação e esfregaço fecal. Do mesmo modo, no anexo 1, dois estudos apresentam valores para *Cryptosporidium* obtidos por esfregaço fecal. Assim, as prevalências obtidas no total destes estudos foram de 2,3% (Mundim *et al.*, 2007), 2,1% (Huber *et al.*, 2005), 1% (Dubná *et al.*, 2007) e 0,7% (Palmer *et al.*, 2008). A prevalência do nosso estudo foi bastante elevada (17,6%), quando comparada com estes estudos. Tendo em conta que as populações em estudo eram as mesmas (cães de canil), uma possível explicação para esta discrepância de valores será o método utilizado, visto que o nosso estudo foi o único que utilizou IFD, um método muito mais sensível e específico para a pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* que as outras técnicas microscópicas (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

Analisando os dados relativos à presença de *Giardia* por canil, qualquer um dos três apresentou prevalências iguais ou superiores a 50% (UZ=61,5%, F&B=50%, CML=53,8%). Estes dados, juntamente com os valores presentes no anexo 2, estão de acordo com a opinião de Papini, Gorini, Spaziani & Cardini (2005), que afirmam que a infecção por *Giardia* em animais de canil é bastante comum e está largamente difundida. Para tal, muito contribui a grande concentração de animais verificada nestes ambientes, favorável a uma elevada contaminação ambiental (Huber, Bomfim & Gomes, 2005), facilitando assim a ingestão de quistos de *Giardia* durante o consumo de comida e água contaminados ou presentes no pêlo (Papini *et al.*, 2005).

Apesar de a presença de quistos de *Giardia* em animais clinicamente normais, poder reflectir infecções subclínicas, estas não deverão ser desvalorizadas, devido à capacidade destes animais transmitirem a infecção a outros cães e contaminar um ambiente comum (Scaramozzino *et al.*, 2009).

No estudo de Bugg *et al.* (1999), o risco de infecção por *Giardia* aumentou à medida que o número de doses por ano de anti-helmínticos aumenta, sendo sugerido que os protozoários intestinais poderão colonizar o nicho deixado vago pelos nemátodos intestinais afectados pela terapêutica. Apesar de os valores de *Giardia* serem equivalente nos 3 canis do nosso estudo, o mesmo não sucede com *Cryptosporidium*, apresentando o canil F&B uma prevalência bastante superior (37,5%) ao verificado nos outros canis (UZ=15,5% e CML=7,7%). Acrescentando o facto de o canil F&B desparasitar os cães de 4 em 4 meses, ao contrário do verificado nos outros dois canis do estudo, os quais desparasitam os cães apenas à entrada destes no canil, a explicação avançada por Bugg *et al.* (1999) poderá igualmente ser aplicada neste caso.

4.2.3 Prevalências por sexo, idade e raça

Não foi detectada nenhuma associação significativa entre a presença de parasitas GI (através dos métodos de flutuação e IFD) e o sexo, idade e raça dos cães.

Se por um lado o sexo dos cães estava distribuído de um modo relativamente equitativo entre machos e fêmeas, o mesmo já não sucedeu com a idade e raça dos animais.

De facto, do total das 124 amostras do estudo associadas a um só cão, a grande maioria pertencia a cães adultos (n=93; 75%), ficando as restantes amostras distribuídas por jovens (n=12; 9,7%) e idosos (n=19; 15,3%), o que de alguma forma poderá ter influenciado os resultados obtidos. Este défice de cães jovens poderá ser explicado pelo facto de os cães presentes nesta faixa etária serem mais facilmente adoptados quando comparados com cães de idade mais avançada.

O estudo de Martínez-Moreno *et al.* (2007) realizado em 1800 animais no Centro de Controlo Animal de Córdoba, recorreu a flutuação passiva e coloração de Ziehl-Neelsen para os exames coprológicos. A faixa etária dos animais foi classificada como menos de 4 meses, entre 4 e 12 meses, entre 12 e 36 meses e mais de 36 meses de idade. Os protozoários intestinais (*Cystoisospora*, *Giardia*, *Neospora*) foram mais comuns em cães mais jovens que 36 meses e o número de animais parasitados decresceu com o aumento da idade. Os céstodos (*D. canium* e Taeniidae) foram mais prevalentes em animais jovens, com idades compreendidas entre os 4 e os 36 meses. Dentro dos nemátodos, *U. stenocephala* foi mais frequente em animais com mais de 12 meses e *T. canis* mais frequentemente observado em cães com menos de 12 meses.

Num estudo realizado nos EUA (Little *et al.* 2009), que incidiu na análise por flutuação de amostras de fezes de cães presentes em clínicas veterinárias de todo o país, os ascarídeos, Ancylostomatidae, *Giardia* e *Cystoisospora* foram diagnosticados um maior número de vezes em cães com menos de 6 meses de idade, quando comparados com os cães com mais de 1 ano de idade. A espécie *T. vulpis* por outro lado foi a única espécie a ser detectada mais frequentemente em cães com idade mais avançada.

Palmer *et al.* (2008) num estudo semelhante ao referido anteriormente mas realizado em território australiano e com amostras de cães provenientes de clínicas veterinárias e de canis obteve maiores prevalências de parasitas GI em animais jovens.

Num estudo realizado por Epe, Rehker, Schnieder, Lorentzen e Kreienbrock (2010) sobre a prevalência de *Giardia* a nível europeu em cães e gatos, foi concluído que os cães com menos de 6 meses têm maior risco de serem positivos para este protozoário. Resultado semelhante obteve Mundim *et al.* (2007) no seu estudo, o qual apresentou diferença estatística significativa entre a presença de *Giardia* em cães jovens. No estudo de Papini *et al.* (2005), os cães com menos de 5 anos apresentaram uma prevalência de 67%, contra os 30% em cães com 5 ou mais anos. Os resultados de Upjohn *et al.* (2010) relativos a um estudo sobre a prevalência de *Giardia* num canil de Londres demonstraram um aumento do risco associado a animais jovens.

A maior prevalência de infecções por parasitas GI em animais jovens ocorre devido à imaturidade do seu sistema imunitário e à presença de infecções por via placentária e lactogénica de alguns parasitas, como *T. canis* e *A. caninum* (Palmer *et al.*, 2008)

Relativamente à raça dos cães da nossa amostra, a grande maioria não apresenta qualquer raça definida (n=101; 81,5%), estando as restantes descritas como sendo de raça pura/cruzada (n=23; 18,5%). Mais uma vez esta discrepância poderá ser explicada pela maior facilidade que os cães de raça têm em ser adoptados comparativamente com os outros cães.

Bridger e Whitney (2009) registaram uma prevalência significativamente mais elevada de *T. canis* e Ancylostomatidae em cães de raça pura. Upjohn *et al.* (2010) no seu estudo relativo à prevalência de *Giardia* num canil de Londres, obtiveram um aumento do risco associado a cães da raça *Rotweiler*.

Em relação à idade dos cães, 70 eram machos (56,5%) e 54 eram fêmeas (43,5%). No estudo realizado por Bridger e Whitney (2009) na ilha de St. Pierre (França) verificou-se uma associação significativa entre infecções por *T. canis* e cães do sexo feminino. Também se verificou uma associação significativa entre as fêmeas e as infecções por *U. stenocephala* no estudo de Martínez-Moreno *et al.* (2007). Relativamente a *Giardia*, nos estudos de Huber *et al.* (2005), Upjohn *et al.* (2010) e Epe *et al.* (2010) não foi detectada associação estatística entre a infecção por *Giardia* e o sexo dos cães.

4.2.4 Número de diferentes géneros de parasitas por cão

No total das amostras associadas a um só cão, 22 cães (17,7%) surgem parasitados com um género de parasita e apenas 7 (5,6%) surgem parasitados com dois géneros de parasitas. Os restantes 95 cães (76,6%) não apresentaram nenhum género de parasita nas amostras fecais submetidas à técnica de flutuação.

Relativamente às amostras de cães pesquisadas por IFD, 17 cães manifestaram a presença de *Giardia* ou de *Cryptosporidium* (50%), enquanto 4 cães (11,8%) surgiram parasitados simultaneamente com os dois parasitas. Apenas 13 (38,2%) das amostras associadas a um só cão, não manifestaram a presença de nenhum dos parasitas.

Estes resultados estão de acordo com o verificado em estudos anteriores, nos quais os animais são predominantemente parasitados por apenas um só género. Num estudo feito em 3 ilhas do arquipélago das Galápagos, Gingrich, Scorza, Clifford, Olea-Popelka e Lappin (2010) obtiveram uma prevalência de 53,6% de cães parasitados com um género parasitário, contra 11,3% de cães parasitados com 2 géneros. Cães parasitados com mais de 2 parasitas também surgiram, apesar de representarem apenas 2,1% do total. Num outro estudo realizado na ilha francesa de St. Pierre, Bridger & Whitney (2009) obtiveram uma prevalência de 33,3% para os animais parasitados com um só género de parasita, enquanto infecções múltiplas obtiveram prevalências de 24,6%.

5. Conclusão

Após análise e discussão dos resultados obtidos, este estudo demonstrou que dentro dos parasitas GI, os protozoários (*Cystoisospora*, *Giardia* e *Cryptosporidium*) são os principais parasitas a circular nos 3 canis envolvidos no estudo, devendo ser tomadas medidas que reduzam a incidência destes agentes, tais como, protocolos de limpeza adequados, redução do *stress*, isolamento dos cães clinicamente doentes e limitação da densidade animal (Lappin & Spindel, 2009). Tendo em conta as elevadas prevalências de protozoários GI registadas neste estudo, a opção pelo tratamento de todos os animais infectados torna-se insustentável e possivelmente infrutífera, devido a razões já apontadas anteriormente. Nesse âmbito, o Autor considera que o tratamento de animais infectados com protozoários GI, principalmente *Giardia* e *Cryptosporidium*, deverá cingir-se aos animais com doença clínica ou aqueles que estejam em vias de adopção.

Não obstante o predomínio evidente dos protozoários, este estudo evidenciou igualmente a presença de nemátodos GI, se bem que em prevalências inferiores. Neste grupo, os membros da família Ancylostomatidae foram os que surgiram a parasitar um maior número de cães, devendo assim ser tomadas as medidas necessárias para um controlo mais eficaz deste parasita.

Os céstodos surgiram em prevalências muito baixas neste estudo, com uma amostra parasitada com ovos de Taeniidae e duas amostras parasitadas com proglotes de *D. caninum*. De forma a não permitir que as prevalências de dipilidiose atinjam valores elevados nos canis, é fundamental que as populações de pulgas sejam mantidas sob controlo apertado.

Foi demonstrado que as pessoas que estão em contacto com os cães abrigados em canis (funcionários, voluntários, veterinários, visitantes) necessitam de estar ao corrente dos riscos associados às doenças parasitárias zoonóticas, assim como das principais medidas associadas à sua prevenção, visto que parasitas como a família Ancylostomatidae, *T. canis*, Taeniidae, *Giardia* e *Cryptosporidium*, todos detectados neste estudo, têm capacidade para infectar o homem. Do mesmo modo, a desparasitação dos cães seleccionados para adopção não pode ser descurada, de forma a estes não constituírem um risco para os seus novos donos e para outros cães.

BIBLIOGRAFIA

- Acedo, C.S., Quílez, J. & Cacho, E. (1999). Cestodosis: Teniosis, Equinococosis, Dipilidiosis, Mesocetoidosis y Difilobotriosis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. *Parasitologia Veterinaria*. (pp. 626-635) Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.
- Adam, R.D. (2000). The *Giardia lamblia* genome. *International Journal for Parasitology*, 30, 475-484.
- Adam, R.D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *Clinical Microbiology Reviews*, 14 (3), 447-475.
- Akao, N. & Ohta N. (2007). Toxocariasis in Japan. *Parasitology International*, 56, 87-93.
- Anderson, R.C. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates: Their Development and Transmission*. (2nd ed.). New York, USA: CABI Publishing.
- Aydenizoz-Ozkayhan, M., Yagci, B.B. & Erat, S. (2008). The investigation of *Toxocara canis* eggs in coats of different dog breeds as a potencial transmission route in human toxocariasis. *Veterinary Parasitology*, 152, 94-100.
- Ballweber, L.R., Xiao, L., Bowman, D.D., Kanh, G. & Cama V.A. (2010). Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 180-189.
- Banos, P.D., Banos, N.D. & Morondo Pelayo, M.P. (1999). Nematodosis: Toxocariosis, Toxascariosis, Ancilostomosis, Tricuriasis, Estrongiloidosis, Espirocercosis, Olulanosis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. *Parasitologia Veterinaria*. (pp. 636-651) Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.
- Bowman, D.D. & Lucio-Forster, A. (2010). Cryptosporidiasis and giardiasis in dogs and cats: Veterinary and public health importance. *Experimental Parasitology*, 124, 121-127.
- Bowman, D.D. (2009). *Georgis, Parasitology for Veterinarians* (9th ed.). St. Louis Missouri: Saunders.
- Bowman, D.D. (2009b). Internal Parasites. In L. Miller & K. Hurley (Eds.). *Infectious Disease Management in Animal Shelters*. (pp. 209-221) Iowa, USA: Willey-Blackwell.
- Bowman, D.D., Montgomery S.P., Zajac, A.M., Eberhand, M.L. & Kazacos, K.R. (2010). Hookworms of Dogs and Cats as Agents of Cutaneous Larva Migrans. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 162-167.
- Bridger, K.E. & Whitney, H. (2009). Gastrointestinal parasites in dogs from the Island of St. Pierre off the south coast of Newfoundland. *Veterinary Parasitology*, 162, 167-170.
- Brunaska, M., Dubinsky, P. & Reiterova, K. (1995). *Toxocara canis*: Ultrastructural Aspects of Larval Moulting in the Maturing Eggs. *International journal for Parasitology*, 25 (6), 683-690.

- Bugg, R.J., Robertson, I.D., Elliot, A.D. & Thompson, R.C.A. (1999). Gastrointestinal Parasites of Urban Dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinary Journal*, 157, 295-301.
- Carvalho, R.O., Araújo, J.V., Braga, F.R., Ferreira, S.R., Araújo, J.M., Silva, A.R., Frassy, L.N., Alves, C.D.F. (2009). Biological Control of Ancylostomosis in Dogs Using the Nematode-Trapping Fungus *Monacrosporium thaumasium* in Southeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 165, 179-183.
- Center for Food Security & Public Health [CFSPH] (2005a). *Animal Disease Factsheet: Hookworms*. Ames, USA: Iowa State University.
- Center for Food Security & Public Health [CFSPH] (2005c). *Animal Disease Factsheet: Trichuriasis*. Ames, USA: Iowa State University.
- Center for Food Security & Public Health [CFSPH] (2005d). *Animal Disease Factsheet: Cryptosporidiosis*. Ames, USA: Iowa State University.
- Center for Food Security & Public Health [CFSPH] (2005b). *Animal Disease Factsheet: Toxocariasis*. Ames, USA: Iowa State University.
- Claerebout, E., Casaert, S., Dalemans, A.C., De Wilde, N., Levecke, B., Vercruysse, J & Geurden, T. (2009). *Giardia* and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Veterinary Parasitology*, 161, 41-46.
- Companion Animal Parasite Council [CAPC] (2009). Intestinal Parasites: Nematodes: Hookworms. Acedido em Fev. 1, 2011. Disponível em: <http://www.capcvet.org/recommendations/hookworms.html>.
- Companion Animal Parasite Council [CAPC] (2010). Intestinal Parasites: Nematodes: Whipworms. Acedido em Fev. 1, 2011. Disponível em: <http://www.capcvet.org/recommendations/whipworms.html>
- Companion Animal Parasite Council [CAPC] (2010b). Intestinal Parasites: Nematodes: *Giardia*. Acedido em Fev. 1, 2011. Disponível em: <http://www.capcvet.org/recommendations/giardia.html>
- Conboy, G. (2009). Cestodes of Dogs and Cats in North America. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39 (6), 1075-1090.
- Corrales, M.C. (1999). Coccidiosis (s.l.). Amebosis. Balantidiosis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. *Parasitología Veterinaria*. (pp. 615-620) Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.
- Covacin, C., Aucoin, D.P., Elliot, A. & Thompson, R.C.A. (2010). Genotypic Characterisation of *Giardia* from domestic dogs in the USA. *Veterinary Parasitology*, in press.
- Cunha Amaral, H.L., Rassier, G.L., Pepe, M.S., Gallina, T., Villela, M.M., Oliveira Nobre, M., James Scaini, C., Aires Berne, M.E. (2010). Presence of *Toxocara canis* eggs on the air of dogs: A risk factor for Visceral Larva Migrants. *Veterinary Parasitology*, 174, 115-118.
- Despommier, D. (2003). Toxocariasis: Clinical Aspects, Epidemiology, Medical Ecology, and Molecular Aspects. *Clinical Microbiology Reviews*, 16 (2), 265-272.

- Don, T.A., Jones, M.K., Smyth, D., O'Donoghue P., Hotez, P., Loukas A. (2004). A pore-forming haemolysin from the hookworm, *Ancylostoma caninum*. *International Journal for Parasitology*, 34, 1029-1035.
- Dubey, J.P., Lindsay, D.S. & Lappin, M.R. (2009). Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39 (6), 1009-1034.
- Dubná, S., Langrová, I., Nápravník, J., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S. & Fechtner, J. (2007). The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 145, 120-128.
- Elmendorf, H.G., Dawson, S.C. & McCaffery, J.M. (2003) The cytoskeleton of *Giardia lamblia*. *International Journal for Parasitology*, 33, 3-28.
- Epe, C. (2006). Current and Future Options for the Prevention and Treatment of Canids. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.239-252). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Epe, C. (2009). Intestinal Nematodes: Biology and Control. *Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice*, 39 (6), 1091-1107.
- Epe, C., Rehker, G., Schnieder, T., Lorentzen, L. & Kreienbrock, L. (2010). *Giardia* in symptomatic dogs and cats in Europe – Results of a European study. *Veterinary Parasitology*, 173, 32-38.
- Ettinger, S.J. & Feldman, E.C. (2010). *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (7th ed). St. Louis, Missouri: Saunders Elsevier.
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites [ESCCAP] (2010). *Worm Control in Dogs and Cats* (2nd Ed.). Worcestershire, UK: ESCCAP.
- Fahrion, A.S., Staebler, S. & Deplazes, P. (2007). Patent *Toxocara canis* infections in previously exposed and in helminth-free dogs after infection with low numbers of embryonated eggs. *Veterinary Parasitology*, 152, 108-115.
- Foreyt, W.J. (2001). *Veterinary Parasitology Reference Manual*. (5th ed.). Iowa: Blackwell Publishing Company.
- Gingrich, E. N., Scorza, A.V., Clifford, E.L., Olea-Popelka, F.J. & Lappin, M.R. (2010). Intestinal parasites of dogs on the Galapagos Islands. *Veterinary Parasitology*, 169, 404-407.
- Glaser, C.A., Safrin, S., Reingold, A. & Newmam, T.B. (1998). Association Between *Cryptosporidium* Infections and Animal Exposure in HIV-Infected Individual. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes & Human Retrovirology*, 17 (1), 79-82.
- Hendrix, C.M. (1998). *Diagnostic Veterinary Parasitology*. (2nd ed.). St. Louis: Mosby.
- Holland, C.V. & Hamilton, C. (2006). The Significance of Cerebral Toxocariasis. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.58-73). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Huber, F., Bomfim, T.C.B. & Gomes, R.S. (2005). Comparison between natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. In dogs in two living situations in the West Zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Veterinary Parasitology*, 130, 69-72.

- Hunter, P.R. & Thompson, R.C. (2005). The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *International Journal for Parasitology*, 35, 1181-1190.
- Inpankaew, T., Traub, R., Thompson, R.C.A. & Sukthana. (2007). Canine Parasitic Zoonoses in Bangkok Temples. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 38 (2), 247-255.
- Jones, C.T., Hunt, R.D. & King, N.W. (1997). *Veterinary Pathology*. (6th ed). Baltimore: Williams & Wilkins.
- Kassai, T. (1999). *Veterinary Helminthology*. Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Kayes, S.G. (2006). Inflammatory and Immunological Responses to *Toxocara canis*. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.158-173). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Keegan, J.D. & Holland, C.V. (2010). Contamination of the air of owned dogs with the eggs of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 173, 161-164.
- Lappin, M.R. & Spindel, M. (2009). Bacterial and Protozoal Gastrointestinal Disease. In L. Miller & K. Hurley (Eds.). *Infectious Disease Management in Animal Shelters*. (pp. 223-240) Iowa, USA: Willey-Blackwell.
- Lappin, M.R. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Isospora* spp Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25 (3), 133-135.
- Lee, A.C.Y., Shantz, P.M., Kazacos, K.R., Montgomery, S.P. & Bowman, D.D. (2010). Epidemiologic and zoonotic aspects of ascarid infections in dogs and cats. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 155-161.
- Leonhard, S., Pfister, K., Beelitz, P., Wielinga, C. & Thompson, R.C.A. (2007). The molecular characterization of *Giardia* from dogs in southern Germany. *Veterinary Parasitology*, 150, 33-38.
- Lindsay, D.S., Dubey, J.P. & Blagburn, B.L. (1997). Biology of *Isospora* spp from Humans, Nonhuman Primates and Domestic Animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 10 (1), 19-34.
- Little, S.E., Johnson, E.M., Lewis, D., Jaklitsch, R.P., Payton, M.E., Blagburn, B.L., Bowman, D.D., Moroff, S., Tams, T., Rich, L. & Aucoin, D. (2009). Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Veterinary Parasitology*, 166, 144-152.
- Logsdon, J. M. Jr. (2008). Evolutionary Genetics: Sex Happens in *Giardia*. *Current Biology*, 18 (2), 66-68.
- Lucio-Forster, A., Griffiths, J.K., Cama, V.A., Xiao, L. & Bowman, D.D. (2010). Minimal zoonotic risk of cryptosporidiosis from pet dogs and cats. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 174-179.
- Magnaval, J.F. & Glickman, L.T. (2006). Management and Treatment Options for Human Toxocariasis. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.113-126). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Martínez-Moreno, F.J., Hernández, S., López-Cobos, E., Becerra, C., Acosta, I. & Martínez-Moreno, A. (2007). Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, 143, 7-13.

- McCarthy, J. & Moore, T.A. (2000). Emerging helminth zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30, 1351-1360.
- McGavin, M.D., Carlton, W.W. & Zachary, J.F. (2001). *Thompson's: Special Veterinary Pathology*. (3rd ed). St. Louis, Missouri: Mosby, Inc.
- Mehlhorn, H. (Ed). (2001). *Encyclopedic Reference of Parasitology, Biology, Structure, Function*. (2nd ed.). Berlim: Springer.
- Meireles, J.A.F.S. & Peleteiro, C. (1989). Um caso raro de colangio-hepatite em cachorro devido a parasitismo grave por *Toxocara canis*. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 84 (489), 47-52.
- Meireles, P., Montiani-Ferreira, F. & Thomaz-Soccol, V. (2008). Survey of giardiasis in household and shelter dogs from metropolitan areas of Curitiba, Paraná state, Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 152, 242-248.
- Mundim, M.J.S., Rosa, L.A.G., Hortêncio, S.M., Faria, E.S.M., Rodrigues, R.M. & Cury, M.C. (2007). Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dogs from different living conditions in Uberlândia, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 144, 356-359.
- Overgaauw, P.A.M. & van Knapen, F. (2008). Toxocariosis, an important zoonosis. *European Journal of Companion Animal Practice*, 18 (3), 260-266.
- Overgaauw, P.A.M., van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F.O., Roelfsema, J., Pinelli, E., van Knapen, F., Kortbeek, L.M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 163, 115-122.
- Palmer, C.S., Thompson, R.C., Traub, R.J., Rees, R. & Robertson, I.D. (2008). National study of the gastrointestinal parasites of dogs and cats in Australia. *Veterinary Parasitology*, 151, 181-190.
- Palmer, C.S., Traub, R.J., Robertson, I.D., Devlin, G., Rees, R. & Thompson, A. (2008). Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. *Veterinary Parasitology*, 154, 142-147.
- Papini, R., Gorini, G., Spaziani, A. & Cardini, G. (2005). Survey on giardiasis in shelter dog populations, *Veterinary Parasitology*, 128, 333-339.
- Plutzer, J., Ongerth, J. & Karanis, P. (2010). *Giardia* Taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 213, 321-333.
- Robertson, I.D. & Thompson, R.C. (2002). Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection*, 4, 867-873.
- Robertson, I.D., Irwin, P.J., Lymbery, A.J. & Thompson, R.C.A. (2000). The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30, 1369-1377.
- Rochette, F. (2003). *Los Parásitos del Perro y Su Control*. Barcelona: Veterinaria Esteve.
- Rosa, L.A.G., Gomes, M. A., Mundim, A.V., Mundim, M.J.S., Pozzer, E.L., Faria E.S.M., Viana, J.C. & Cury, M.C. (2007). Infection of dogs by experimental inoculation with human isolates of *Giardia duodenalis*: Clinical and laboratory manifestations. *Veterinary Parasitology*, 145, 37-44.

- Scaramozzino, P., Di Cave, D., Berrilli, F., D'Orazi, C., Spaziani, A., Mazzanti, S., Scholl, F. & De Liberato, C. (2009). A study of the prevalence and genotypes of *Giardia duodenalis* infecting kennelled dogs. *The Veterinary Journal*, 182, 231-234.
- Schantz, P.M. (2006). Toxocariasis: the Veterinarian's Role in Prevention of Zoonotic Transmission. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.253-259). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Schnieder, T., Laabs, E.M. & Welz, C. (2010). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary Parasitology*, in press.
- Scorza, V. & Tangtrongsup, S. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Cryptosporidium* spp Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25 (39), 163-169.
- Smith, H., Holland, C., Taylor, M., Magnaval, J.F., Schantz, P., Maizels R. (2009). How common is human toxocariasis? Towards standardizing our knowledge. *Trends in Parasitology*, 25 (4), 182-188.
- Smith, H.V., Cacciò, S.M., Cook, N., Nichols R.A.B. & Tait, A. (2007). *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Veterinary Parasitology*, 149, 29-40.
- Tangtrongsup, S. & Scorza, V. (2010). Update on Diagnosis and Management of *Giardia* spp Infections in Dogs and Cats. *Topic in Companion Animal Medicine*, 25 (3), 155-162.
- Thienpont, D., Rochette, F. & Vanparijs, O.F.J. (1986). *Diagnóstico de Las Helminthiasis Por Medio del Examen Coprológico*. (Seg. ed.). Beerse, Bélgica: Janssen Pharmaceutica.
- Thompson, R.C.A. (2000). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potencial. *International Journal for Parasitology*, 30, 1259-1267.
- Thompson, R.C.A. (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary Parasitology*, 126, 15-35.
- Thompson, R.C.A., Palmer, C.S. & O'Handley R. (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 177, 18-25.
- Traub, R.J. (2008). The veterinary public health significance of *Giardia* and *Cryptosporidium*: Getting things in perspective. *The Veterinary Journal*, 177, 309-310.
- Traub, R.J., Monis, P.T., Robertson, I., Irwin, P., Mencke, N. & Thompson, R.C.A. (2004). Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology*, 128, 253-262.
- Upjohn, M., Cobb, C., Monger, J., Geurden, T., Claerebout, E & Fox, M. (2010). Prevalence, molecular typing and risk factor analysis for *Giardia duodenalis* infections in dogs in a central London rescue shelter. *Veterinary Parasitology*, 172, 341-346.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W., (1996). *Veterinary Parasitology*. (2nd ed.). Oxford: Blackwell Publishing.
- Veja, F.A. (1999). Giardiasis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. *Parasitologia Veterinaria*. (pp. 620-623) Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.

- Villeneuve, A. (2009). *Giardia* and *Cryptosporidium* as emerging infections in pets. *Veterinary Focus*, 19 (1), 42-45.
- Volotão, A.C., Costa-Macedo, L.M., Haddad, F.S.M., Brandão, A., Peralta, J.M. & Fernandes, O. (2007). Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using β -giardin gene: A phylogenetic analysis. *Acta Tropica*, 102, 10-19.
- Watts, C.S., Liang, J.L. & Schantz, P.M. (2006). Baylisascariasis: an Emerging and Potentially Fatal Form of Larval Migrants. In C.V. Holland, H.V. Smith (Eds.), *Toxocara, The Enigmatic Parasite*. (pp.228-236). Wallingford, Oxfordshire, UK: CABI Publishing.
- Xiao, L. & Fayer, R. (2008). Molecular characterization of species and genotypes of *Cryptosporidium* and *Giardia* and assessment of zoonotic transmission. *International Journal for Parasitology*, 38, 1239-1255.

ANEXOS

Anexo 1

Tabela 20: Estudos feitos em canis relativos a prevalências de parasitas gastrintestinais.

Fonte	Blagburn <i>et al.</i> , 1996*	Dubná <i>et al.</i> , 2007	Bridge & Whitney, 2009	Moreno <i>et al.</i> , 2007	Palmer <i>et al.</i> , 2008	Bugg <i>et al.</i> , 1999
Local	EUA	Rep. Checa, Praga	França, Ilha de St. Pierre	Espanha, Córdoba	Austrália	Perth, Austrália
Nº Amostra	6458	524	15	1800	590	100
Métodos	Flutuação	Flutuação, McMaster, Esfregaço fecal	Flutuação	Flutuação, Esfregaço fecal, Necrópsia	Flutuação, Esfregaço fecal	Flutuação
Total Global	36%		53.3%	71,4%	34,6%	37%
Helmintes <i>Ancylostoma</i> spp	20,2%	0.8%	20%	33,3% (<i>U. stenocephala</i>)	10,7%	6%
<i>T. canis</i>	15,2% (Ascarídeos)	5%	20%	17,7%	2,4%	0%
<i>T. leonina</i>		0.8%		14,9%	0%	
<i>T. vulpis</i>	14,3%		0%	1,7%	3,1%	
Taenlidae		2.8%		8,56%		
<i>D. caninum</i>		0,5%		13,22%	0,3%	1%
Protozoários <i>Cystoisospora</i> spp	4.8%	10,4%	6,7%	10,2% (<i>Isospora</i> spp) (22% <i>C. canis</i>)	1,4% (<i>C. canis</i>) (5,6% <i>C. ohioensis</i>)	7%(<i>C. canis</i>) 5% (<i>C. ohioensis</i>)
<i>G. duodenalis</i>	0,6%	10%		1%	14,4%	29%
<i>Cryptosporidium</i>		1%			0,7%	

*Citado em Little *et al.*, 2009

Anexo 2

Tabela 21: Estudos feitos em canis relativos a prevalência de *Giardia* e *Cryptosporidium*.

Fonte	Scaramozzino <i>et al.</i> , 2009	Papini <i>et al.</i> , 2005	Claerebout <i>et al.</i> , 2009*	Epe <i>et al.</i> , 2010	Mundim <i>et al.</i> , 2007	Upjohn <i>et al.</i> , 2010	Huber <i>et al.</i> , 2005
Métodos	Esfregaço fecal directo, PCR	ELISA	Flutuação, IFD	ELISA	Flutuação, Esfregaço fecal	ELISA	Flutuação
Local	Itália (Roma)	Itália (Roma)	Bélgica	Europa	Brasil (Uberlândia)	Inglaterra (Londres)	Brasil (Rio de Janeiro)
Nº Amostra	127	183	357	646	89	878	94
<i>G. duodenalis</i>	20,5%	55,2%	43,9%	34,3%	16,8%	21%	45,7%
<i>Cryptosporidium</i>			0		2,3%		2,1%

*Canis de criação.

Anexo 3

Tabela 22: Céstodos do cão pertencentes à Ordem Cyclophyllidea e seus hospedeiros intermediários. Adaptado: Acedo et al., 1999.

	Hospedeiro Definitivo	ppp (dias)	Hospedeiro Intermediário	Fase Larvar	Localização
Familia Taeniidae <i>T. hydatigena</i>	Cão	51	Ruminantes, porco	Cisticerco	Peritoneu
<i>T. ovis</i>	Cão, raposa	60	Ovinos	Cisticerco	Músculos
<i>T. multiceps</i>	Cão, raposa	45-57	Ovinos, homem	Cenuro	SNC
<i>T. pisiformis</i>	Cão, raposa	50	Lagomorfos	Cisticerco	Tecido Conjuntivo
<i>T. serialis</i>	Cão, raposa	7-14	Lagomorfos, homem	Cenuro	Tecido conjuntivo
<i>T. taeniformis</i>	Gato, cão	36-42	Ratazana, rato	Estrobilocerco	Fígado
<i>E. granulosus</i>	Cão, raposa	42	Ruminantes, outros mamíferos, homem	Quisto hidático unilocular	Fígado/pulmões, etc
<i>E. multilocularis</i>	Raposa, gato, cão	37	Rato, homem	Quisto hidático multilocular	Fígado
Familia Dipylidiidae <i>Dipylidium caninum</i>	Cão, gato, raposa, homem	14-21	Pulgas	Cistercercoide	Cavidade corporal do HI

Anexo 4 – Sexo, idade e raça para as amostras pesquisadas pelo método de flutuação.

Tabela 23: Distribuição de machos e fêmeas por canil.

		Sexo		Total
		F	M	
Canil	F&B	12	12	24
	CML	14	30	44
	UZ	28	28	56
Total		54	70	124

Tabela 24: Distribuição da idade dos cães por canil.

		Idade			Total
		Jovem	Adulto	Idoso	
Canil	F&B	3	18	3	24
	CML	4	39	1	44
	UZ	5	36	15	56
Total		12	93	19	124

Tabela 25: Distribuição das raças por canil.

		Raça		Total
		Pura/Cruzada	Indeterminada	
Canil	F&B	1	23	24
	CML	13	31	44
	UZ	9	47	56
Total		23	101	124

Anexo 5 - Sexo, idade e raça e outras informações para as amostras pesquisadas pela técnica de IFD.

Tabela 26: Distribuição por canil das amostras seleccionadas para IFD.

		Canil			Total
		F&B	CML	UZ	
IFD	Sim	9	16	29	54
	Não	17	37	71	125
Total		26	53	100	179

Tabela 27: Número de cães por amostra (IFD).

		Frequência	%	% acumulada
Nº cães/ Amostra	1	34	63,0	63,0
	2	10	18,5	81,5
	3	3	5,6	87,0
	4	6	11,1	98,1
	6	1	1,9	100,0
	Total	54	100,0	

Tabela 28: Distribuição de machos e fêmeas por canil (IFD).

		Canil			Total
		F&B	CML	UZ	
Sexo	F	5	4	7	16
	M	3	9	6	18
Total		8	13	13	34

Tabela 29: Distribuição das idades dos cães por canil (IFD).

		Idade			Total
		Jovem	Adulto	Idoso	
Canil	F&B	1	6	1	8
	CML	1	12	0	13
	UZ	0	9	4	13
Total		2	27	5	34

Tabela 30: Distribuição das raças por canil (IFD).

		Raça		Total
		Pura/Cruzada	Indeterminada	
Canil	F&B	1	7	8
	CML	3	10	13
	UZ	1	12	13
Total		5	29	34

Anexo 6 – Imagens de ovos de parasitas GI.

Figura 38: *Imagem esquerda - Ovo de T. canis. Ampliação:190x. Imagem direita – Ovo T. leonina. Ampliação:160x. Fonte: Original.*



Figura 39: Ovo de *T. vulpis*. Ampliação:350x. Fonte: original.



Figura 40: Proglote (*Imagem superior*) e cápsulas ovíferas (*Imagem inferior*) (Ampliação: 260x) de *D. caninum*. Fonte: Original.

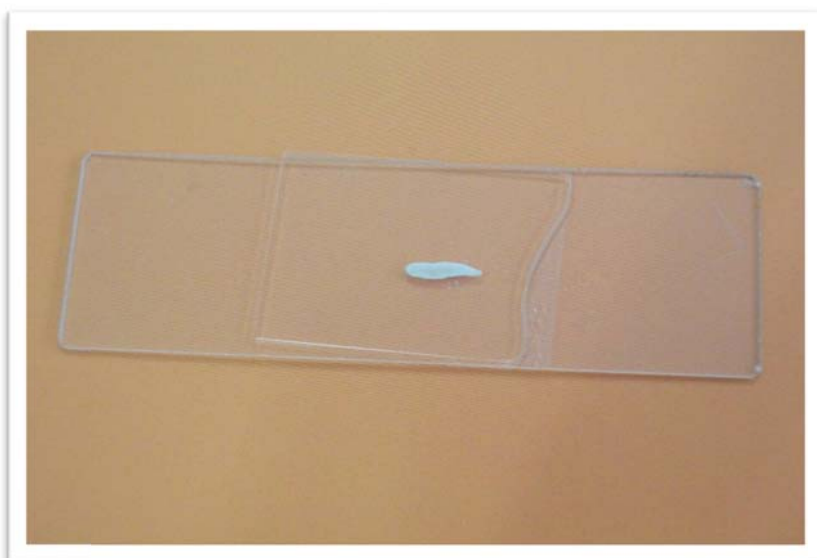


Figura 41: Oocisto esporulado (inferior) e não-esporulado (superior) de *Cystoisospora*. Ampliação: 250x. Fonte: Original.

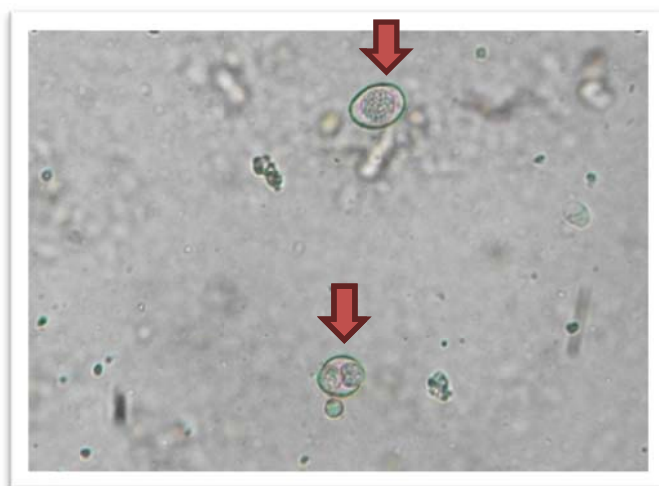


Figura 42: Ovos de Ancylostomatidae. Ampliação: 420x. Fonte: Original.



Figura 43: L1 observada ao microscópio óptico após flutuação fecal. Ampliação:160x. Fonte: Original.



Figura 44: L1 observada ao microscópio óptico após flutuação fecal. Ampliação:160x. Fonte: Original.



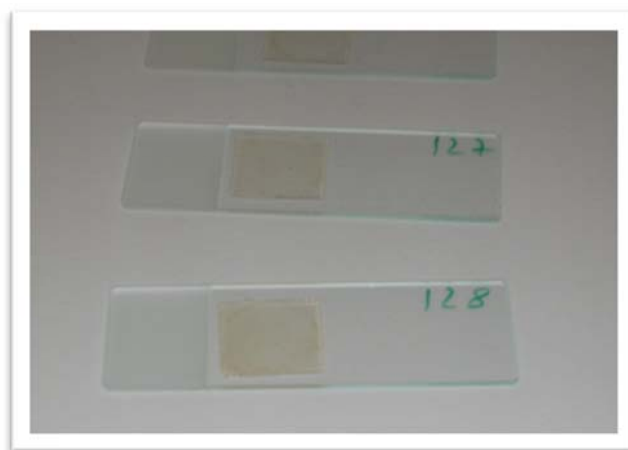
Anexo 7 - Método de flutuação passiva (Urquhart *et al.*, 1996).

1 – Adicionar uma certa quantidade de fezes frescas (aproximadamente 2 g) ao copo de mistura que contém 20 ml de solução de sulfato de zinco (Figura 45 – *Imagem esquerda*) e homogeneizar com o auxílio de uma vareta de vidro.

2 – Depois de homogeneizar os dois componentes, recorre-se a um passador e a um funil para proceder à transferência do líquido para um tubo de ensaio até se formar um pequeno menisco. No topo deste adiciona-se uma lamela (Figura 45 – *Imagem direita*).

3 – Após 15 minutos, retirar a lamela e colocá-la numa lâmina, para observação microscópica na objectiva de 10x (Figura 45 – *Imagem inferior*).

Figura 45: *Imagem esquerda* - Copos com solução de sulfato de zinco. *Imagem direita* – Lamelas no topo de tubos de ensaio. *Imagem inferior* – Lâminas prontas para observação ao microscópio óptico para pesquisa de ovos de parasitas GI. Fonte: Original.



Anexo 8 - Técnica de IFD (*Crypto/Giardia Cel IF Test; Cellabs*)

- 1 - Adicionar uma pequena porção de fezes a um tubo de ensaio com 2 ml de água destilada e homogeneizar.
- 2 - Com recurso a uma micropipeta, passar 25 µl da solução contida no tubo de ensaio para uma lâmina de imunofluorescência. Utilizar apenas um poço por lâmina, ficando os restantes poços vazios. Desta forma evita-se a contaminação entre poços (Figura 46 – *Imagem esquerda*).
- 3 - Deixar secar completamente a amostra nas lâminas à temperatura ambiente.
- 4 - Quando a amostra estiver completamente seca, fixar com acetona e deixar secar à temperatura ambiente.
- 5 - Adicionar 25 µl do Reagente *Crypto/Giardia Cel* (fornecido pelo fabricante) à amostra fixada. Adicionar o controlo positivo a uma lâmina nova.
- 6 - Incubar em câmara húmida as lâminas na estufa a 37°C durante 30 minutos (Figura 46 – *Imagem direita*).
- 7 - Após os 30 minutos, fazer uma lavagem suave (1 minuto) com tampão fosfato salino (PBS).
- 8 - Retirar da lâmina o excesso de líquido, inclinando-a suavemente. Se necessário, utilizar papel absorvente para eliminar excesso de PBS, tendo atenção para não tocar no poço.
- 9 - Com uma pipeta de *Pasteur* adicionar uma gota de Fluido de Montagem (fornecido pelo fabricante) ao poço com a amostra, colocando depois uma lamela por cima.
- 10 - Observar a lâmina num microscópio de fluorescência com as objectivas de 400x e 1000x.

Figura 46: *Imagem esquerda:* Lâmina de IF com uma amostra por poço. *Imagem direita:* Amostras após câmara húmida, à saída da estufa.

